UNIVERSITÉ DE PARIS VI

FACULTÉ DE MÉDECINE SAINT ANTOINE

Année 1971 **THÈSE** N° 92

POUR LE

DOCTORAT EN MÉDECINE

(Diplôme d'état)

PAR

Jean-H. SAURAT

Ne le 20-12-1943 à Kenadza (Algerie)

INTERNE DES HOPITAUX DE PARIS

ATTACHE ASSISTANT DE PATHOLOGIE EXPERIMENTALE

A LA FACULTE NECKER ENFANTS MALADES

PRÉSENTÉE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE

INTERET DU TEST D'INHIBITION DE LA MIGRATION DES LEUCOCYTES CIRCULANTS DANS L'ALLERGIE STREPTOCOCCIQUE CHEZ L'HOMME

Président : Monsieur R. WOLFROMM Professeur

UNIVERSITÉ DE PARIS VI

FACULTÉ DE MÉDECINE SAINT ANTOINE

Année 1971 **THÈSE** N°

POUR LE

DOCTORAT EN MÉDECINE

(Diplôme d'état)

PAR

Jean-H. SAURAT

Ne le 20-12-1943 à Kenadza (Algerie)

INTERNE DES HOPITAUX DE PARIS

ATTACHE ASSISTANT DE PATHOLOGIE EXPERIMENTALE

A LA FACULTE NECKER ENFANTS MALADES

PRÉSENTÉE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE

INTERET DU TEST D'INHIBITION DE LA MIGRATION DES LEUCOCYTES CIRCULANTS DANS L'ALLERGIE STREPTOCOCCIQUE CHEZ L'HOMME

Président : Monsieur R. WOLFROMM Professeur

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

1-10-1971

UNIVERSITE PARIS VI

FACULTE DE MEDECINE SAINT-ANTOINE

-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-

Professeurs titulaires

-:-:-:-:-:-:-:-:-

MM.	ANDRE R.	Hématologie
	BRISSAUD H.	Pédiatrie
	BROCARD R.	Médecine
	CAROLI J.	Médecine
	CATINAT J.	Cardiologie
	CERBONNET G.	Chirurgie
	CHERIGIE Ed.	Radiologie
	CHIGOT P.L.	Chirurgie infantile
	CONTAMIN Fr.	Neurologie
	CONTE M.	Médecine
	DAGUET L.	Bactériologie
	DEBRAY J.	Médecine
	FLABEAU F.	Chirurgie
	GERBEAUX J.	Thérapeutique
	GOSSET J.	Chirurgie
MM.	HUGELIN A.	Physiologie
	LAPLANE R.	Pédiatrie
	LE LORIER G.	Obstétrique
	LOEPER J.	Médecine expérimentale - Immunologie
	LOYGUE J.	Chirurgie
	MAROIS M.	Histologie
	MERGER R.	Obstétrique
	MILHAUD G.	Biophysique
	NICK J.	Neurologie
	ORCEL L.	Anatomie pathologique
	PERRAULT M.	Médecine
	POLONOVSKI Cl.	Pédiatrie
	POLONOVSKI J.	Biochimie
	RICHET G.	Néphrologie
	WOLFROMM R.	Médecine

Professeurs sans chaire

-:-:-:-:-:-:-:-:-

MM.	BRICOUT F.	Bactério-Virologie
	CHALUT J.	Radiologie
Mme	CHAPUT A.	Stomatologie
MM.	DUHAMEL G.	Hématologie
	GIRARD F.	Physiologie
MM.	GOLVAN Y.J.	Parasitologie
	LESTRADET H.	Pédiatrie
	PICARD J.	Biochimie
	ROUX Ch.	Embryologie

.../...

Maîtres de Conférences

-:-:-:-:-:-:-:-

IM.	AKOUN G.	Médecine
	ARDAILLOU R.	Physiologie
	BAUX S.	Chirurgie
	BOURY G.	Chirurgie
	CHEYMOL G.	Pharmacologie
	CHOUARD Cl.	O. R. L.
	CLOAREC M.	Médecine
Ime	COMBRISSON A.	Hématologie
IM.	COSCAS G.	Ophtalmologie
	DAUTRY P.	Chirurgie
	DELIGNE P.	Anesthésiologie
	DOYON D.	Radiologie
	DRY J.	Médecine
	FOUET P.	Thérapeutique
	GAUTIER H.	Physiologie
	GRUNER M.	Chirurgie infantile
	GUILMET Cl.	Anesthésiologie
	GUIRAUDON G.	Anatomie
	HERMAN D.	Médecine
	HUGUET Cl.	Chirurgie
	HUGUIER M.	Chirurgie
MM.	LASFARGUES G.	Pédiatrie
	LAUGIER A.	Radiologie
	LEVY V.G.	Médecine
	MALAFOSSE M.	Chirurgie
	MENSCH B.	Biophysique
	MERY J.Ph.	Néphrologie
Mme	MIGNON Fr.	Néphrologie
MM.	OPOLON J.	Médecine
	PAQUELIN Fr.	O. R. L.
	PIERON R.	Médecine
	PISSARRO B.	Médecine préventive
	POULET J.	Médecine
	RAMPINI Cl.	Biochimie
	RICHARDET J.M.	Pédiatrie
	ROLAND J.	Anatomie pathologique
	SALAT J.	Obstétrique
	SALMON Ch.	Hématologie
	SANTARELLI J.	Obstétrique
	WARGON H.	Médecine expérimentale
	WEINMANN S.	Biochimie

Enseignants Associés

-:-:-:-:-:-:-:-

Professeur Associé	MM.	BLOCH-MICHEL H.	Rhumatologie
M. C. A. Associé		ELIAKIS Em.	Médecine légale

.../...

Maîtres de Conférences

ARDUIN O.	Médecine	MM. LASTARGUES G.	Pédiatrie
ARDAILLOU R.	Physiologie	LAUGIER A.	Radiologie
BAUX S.	Chirurgie	LEVY V.G.	Médecine
BOURY G.	Chirurgie	MALAFOSSE M.	Chirurgie
CHEYMOL G.	Pharmacologie	MENSCH B.	Biophysique
CHOUARD Cl.	O. R. L.	MERY J.Ph.	Néphrologie
CLOAREC M.	Médecine	Mme MIGNON Fr.	Néphrologie
COMBRISSON A.	Hématologie	MM. OPOLON J.	Médecine
COSCAS G.	Ophtalmologie	PAQUELIN Fr.	O. R. L.
DAUTRY P.	Chirurgie	PIERON R.	Médecine
DELCONE P.	Anesthésiologie	PISSARRO B.	Médecine préventive
DOYON D.	Radiologie	POULET J.	Médecine
DRY J.	Médecine	RAMPINI Cl.	Biochimie
FOUET P.	Thérapeutique	RICHARDET J.M.	Pédiatrie
GAUTIER H.	Physiologie	ROLAND J.	Anatomie pathologique
GRUNER M.	Chirurgie infantile	SALAT J.	Obstétrique
GUILMET Cl.	Anesthésiologie	SALMON Ch.	Hématologie
GUIRAUDON G.	Anatomie	SANTARELLI J.	Obstétrique
HERMAN D.	Médecine	VARDON H.	Médecine expérimentale
HUGUET Cl.	Chirurgie	WEINMANN S.	Biochimie
HUGUIER M.	Chirurgie		

Enseignants Associés

Professeur Associé	MM. BLOCH-MICHEL H.		Rhumatologie
M. C. A. Associé	KILANDJI Em.		Médecine légale

Enseignants Contractuels

-:-:-:-:-:-:-:-

M. C. A.	M. KIRSCH F.	Physiologie biochimique

Chargés d'Enseignement

-:-:-:-:-:-:-:-

MM.	BENOIST	Rhumatologie	MM.	DUNET	Endocrinologie
	BRUEZIERE	Chirurgie infantile		LOFFREDO	Obstétrique
	CRISTOL	Cardiologie		SALOMON	Rhumatologie

Attachés d'Enseignement

-:-:-:-:-:-:-:-

MM.	CASASSUS	Cardiologie	MM.	HIVET	Chirurgie
	COUVREUR	Thérapeutique		MIGNOT	Neurologie
	DES LAURIERS	Neurologie		SAUVAN	Cardiologie
	GALLOUEDEC	Pneumologie		VANNIER	Pneumologie

A mon Père (in memoriam)

A ma Mère

A ma Femme

A ma Soeur

A ma famille et à mes amis.

A mon Maître et Président de Thèse

Monsieur le Professeur René WOLFROMM

Professeur à la Faculté de Médecine de Paris.
Médecin de l'Hopital Rothschild.

Qui m'a fait l'honneur d'accepter la présidence de cette thèse.

Qu'il trouve ici la modeste manifestation d'une orientation immuno-allergologique que le dynamisme de sa personnalité et la richesse de son enseignement m'ont fait adopter.

En témoignage de profonde admiration et de respectueuse affection.

A mon Maître

Monsieur le Professeur Agrégé Jean PAUPE.

Médecin des Hopitaux de Paris.

En m'accueillant dans son Laboratoire, il m'a initié à l'immunologie et a permis la réalisation de ce travail.

Dans son enseignement, dans la direction de son équipe, il apprend la rigueur et la clarté.

En témoignage de vive gratitude et de sincère attachement.

A mon Maître

Monsieur le Professeur Bernard DUPERRAT.

Professeur de Clinique Dermatologique à la
Faculté de Médecine de Paris.
Médecin de l'Hopital Saint-Louis.

L'éclat de son enseignement a guidé,
pendant un an, mes premiers pas en
Dermatologie.

En témoignage de fidèle reconnaissance
et de respectueuse admiration.

A mon Maître

Monsieur le Professeur Robert DEGOS

Professeur de Clinique des Maladies cutanées et syphilitiques à la Faculté de Médecine de Paris.
Médecin de l'Hopital Saint-Louis.

Qui me fait le très grand honneur de m'accepter dans son Service.

En témoignage de profond et respectueux dévouement.

A mes Maîtres dans les Hopitaux

EXTERNAT

Docteur Ph. MONOD-BROCA
Professeur R. KUSS
Docteur G. LOISEAU
Professeur A. LEMAIRE
Docteur P. UHRY
Professeur J. LOEPER
Professeur Agrégé J. SALET.

INTERNAT

Docteur M. GRENINGER
Professeur R. WOLFROMM
Professeur J.L. PARROT
Professeur B. DUPERRAT
Professeur R. DEGOS.

Avec ma déférente gratitude.

A Monsieur le Professeur Agrégé Antoine PUISSANT

Médecin des Hopitaux de Paris

Que je remercie pour la sympathie de son accueil et l'attrait de son enseignement subtil et familier.

A Monsieur le Professeur Agrégé Denis HERMAN

Médecin des Hopitaux de Paris.

Qui m'a toujours témoigné une bienveillante sollicitude. Qu'il trouve ici l'expression de ma sincère reconnaissance.

Au Docteur Pierre NATAF

La rigueur éclairée de sa Médecine est, pour moi, un exemple.

Aux Docteurs

Robert PRINGUET
Alain KESSELER
Victor DAVID

En témoignage de vive gratitude.

Au Docteur Jean Marc HUSSON

Ce travail lui doit beaucoup. En témoignage de sincère amitié.

A Madame Claude BURTIN-LABORDE

Maître de recherche à l'INSERM

Avec ma vive reconnaissance pour les conseils qu'elle m'a souvent prodigués lors de la réalisation de ce travail.

A toute l'équipe du Laboratoire de Pathologie expérimentale du CHU Necker Enfants Malades.

Au sein de laquelle, il fait si bon travailler.

J'adresse tous mes remerciements

A Messieurs les Médecins de la Consultation d'Allergologie de l'Hopital Rothschild qui ont bien voulu me confier leurs malades :

Docteur Claude VALLERY RADOT
Docteur Etienne BLOCH-MICHEL
Madame le Docteur LE BEL

A Monsieur Roger LAMBERT, Maître de recherche au C.N.R.S.

Pour les indications qu'il a bien voulu me fournir lors de l'analyse statistique de mes résultats.

Au Docteur L. GUIBERT

Qui m'a donné les antigènes utilisés lors de ce travail.

PLAN

I INTRODUCTION ..... p 1 - 2

II LE TEST D'INHIBITION DE LA MIGRATION DES LEUCOCYTES CIRCULANTS CHEZ L'HOMME ..... p 3 à 12

A) Travaux de Rich et Lewis (observation princeps)
B) Travaux de George et Vaughan (mise au point d'une technique)
C) Travaux de Bloom et Bennett et de David (explication du phénomène).
D) Travaux de Soborg et Bendixen (application à la clinique humaine)

III IMMUNOLOGIE DE L'INFECTION STREPTOCOCCIQUE ..... p 13 à 20

A) Les antigènes du streptocoque A
B) Réponse immunitaire à l'infection streptococcique.

IV L'ALLERGIE STREPTOCOCCIQUE EN CLINIQUE. ..... p 21 à 30

A) Maladies pour lesquelles une allergie streptococcique est possible.
B) Critères actuellement disponibles pour le diagnostic d'une allergie streptococcique.

V TRAVAUX PERSONNELS : INTERET DU TEST D'INHIBITION DE LA MIGRATION DES LEUCOCYTES CIRCULANTS DANS L'ALLERGIE STREPTOCOCCIQUE CHEZ L'HOMME. p 31 à 51

- Matériel et Méthodes
- Résultats
- Discussion

VI CONCLUSIONS. ..... p 52 à 53

I INTRODUCTION

Lorsque, dans une population humaine adulte, on pratique des tests intra dermiques avec une dose appropriée de streptocoques A tués par la chaleur, trois éventualités sont possibles.

Dans la très grande majorité des cas, le test intra dermique est positif à la 48ème heure. (62)

Beaucoup plus rarement, le test reste négatif.

Enfin, chez certains sujets, atteints de maladie où une hypersensibilité au streptocoque peut être suspectée comme facteur étiologique, le test déclenche une réactivation (réaction syndromique d'aggravation) ou, au contraire, une sédation (réaction syndromique d'amélioration) des manifestations pathologiques. La réaction syndromique est actuellement considérée comme un argument indispensable pour incriminer la responsabilité d'une sensibilisation streptococcique dans la génèse (ou l'entretien) de la maladie (9-IO-90).

Mais, cette réaction syndromique étant souvent difficile à rechercher, parfois inconfortable pour le malade, toujours dangereuse en cas d'uvéite, l'utilisation d'un test in vitro serait d'un grand intérêt pratique (46 - 82).

Le but de ce travail est de comparer in vitro la réactivité de ces trois groupes de sujets vis-àvis du streptocoque A.

Le test d'inhibition de la migration des leucocytes du sang périphérique humain (T.M.L.) est un test de réalisation relativement facile chez l'homme. Déjà utilisé dans le diagnostic de l'immunité anti microbienne (84) il semblait donc intéressant de l'appliquer à l'étude de l'allergie streptococcique.

Avant l'exposé des travaux personnels :

1) - On énoncerale principe du test d'inhibition de la migration des leucocytes.

2) - Il sera fait un bref rappel de l'immunologie de l'infection streptococcique.

3) - Les aspects cliniques et les critères des allergies streptococciques seront discutés.

CHAPITRE II LE TEST D'INHIBITION DE LA MIGRATION DES LEUCOCYTES DU SANG PERIPHERIQUE CHEZ L'HOMME. TML.

Le T.M.L. a été mis au point par SOBORG et BENDIXEN en 1967 (83). Il s'agit de l'application chez l'homme d'une notion découverte en 1932 par RICH et LEWIS (78) et reprise en 1962 par GEORGE et VAUGHAN (43).

I) L'OBSERVATION DE RICH ET LEWIS 1932 :

Lorsque des fragments spléniques sont cultivés in vitro sur une surface de verre, les cellules spléniques ont tendance à migrer hors du fragment et à s'étaler sur la surface de verre. Si des fragments spléniques de lapin sensibilisé à la tuberculine sont cultivés in vitro en présence de tuberculine, la migration des cellules spléniques est inhibée.

Il s'agissait là, de la première observation d'un phénomène in vitro correspondant à l'hypersensibilité retardée.

II) GEORGE ET VAUGHAN EN 1962 METTENT AU POINT UNE TECHNIQUE REPRODUCTIBLE EXPLOITANT CETTE NOTION CHEZ L'ANIMAL.

1°) Ils utilisent des cellules provenant d'un exsudat péritonéal de cobaye qu'ils placent dans un tube capillaire. Le tube repose horizontalement sur une surface de verre siliconée. Les cellules ainsi recueillies ont tendance à sortir du tube capillaire et à s'étaler sur la plaque de verre, où elles dessinent une aire circulaire. La migration de cellules provenant de cobayes sensibilisés à la tuberculine est inhibée si de la tuberculine est ajoutée au milieu de culture. L'importance de cette inhibition peut être mesurée par rapport à la migration normale de ces cellules en l'absence de tuberculine.
L'hypersensibilité retardée devient ainsi mesurable in vitro.

2°- L'analyse du phénomène est entreprise. Elle révèle que :

- l'inhibition de la migration est spécifique. Cette spécificité est aussi étroite que la réponse retardée in vivo à des radicaux chimiques définis (DAVID 26-28-30).
- l'inhibition de la migration correspond étroitement à l'existence chez le cobaye d'une hypersensibilité de type retardée à l'antigène testé. Elle est indépendante des anticorps circulants.
- les cellules impliquées dans l'inhibition de la migration sont de deux types, présents dans l'exsudat péritonéal : lymphocytes et macrophages :
    - l'intégrité de la membrane des cellules est nécessaire. La trypsine supprime en effet l'inhibition de la migration en présence d'antigène spécifique. (29).
    - Les processus de synthèse protéïque jouent un rôle puisque la puromycine abolit le phénomène d'inhibition.
    - seul un petit nombre de cellules provenant de l'animal sensibilisé sont nécessaires. Ainsi, en incorporant des cellules de cobaye non sensibilisé, on obtient une inhibition en présence d'antigène, même si les cellules provenant de l'animal non sensibilisé représentent plus de 90 % du mélange. (27).

III) L'étape suivante est l'oeuvre de deux équipes. Celle de BR. BLOOM et B. BENNETT et celle de J. DAVID : elle aboutit à définir le rôle respectif des deux populations cellulaires (lymphocytes et macrophages) et étaye le rôle postulé d'un facteur soluble, grâce à des méthodes en deux temps.

1) DAVID utilise des lymphocytes provenant de ganglions lymphatiques de cobaye sensibilisé, qu'il cultive en présence d'antigène. Le surnageant de ces cultures, dépourvu de cellules, inhibe la migration de cellules d'exsudat péritonéal de cobaye non sensibilisé. (31)

2) BLOOM et BENNETT utilisent l'exsudat péritonéal lui-même où ils parviennent à séparer les deux types de cellules : lymphocytes (I5 %) et macrophages (75 %). Ils peuvent montrer ainsi que : (I5-I6-I7-I8)

- Les lymphocytes provenant d'un animal sensibilisé ne migrent pas s'ils sont placés isolément en tube capillaire, que le milieu contienne ou non l'antigène spécifique.
- Si à la population purifiée de macrophages, on ajoute un faible pourcentage de lymphocytes *(moins de I %) l'inhibition de la migration se produit en présence d'antigène.
- Enfin, le surnageant (dépourvu de toute cellule) d'une culture de lymphocytes *réalisée en présence d'un antigène, inhibe la migration d'une population de macrophages péritonéaux provenant d'un animal non sensibilisé à l'antigène.

(* sensibilisés)

... / ...

- Les macrophages provenant d'un animal sensibilisé migrent toujours que le milieu contienne ou non l'antigène.

3) Le mécanisme de l'inhibition de la migration des macrophages, maintenant éclairci peut ainsi être schématisé :

- La cellule sensible à l'antigène et réagissant spécifiquement avec lui est le lymphocyte sensibilisé.
- Après le contact lymphocyte sensibilisé - antigène, cette cellule produit un facteur soluble.
- Ce facteur soluble inhibe la migration de la population macrophagique, que cette dernière provienne ou non d'un animal sensibilisé.
- Les macrophages jouent le rôle d'un " indicateur de migration ".
- Le facteur soluble est appelé M.I.F. ou facteur inhibiteur de la migration. Il s'agit de l'une des " lymphokines " médiatrices de l'hypersensibilité retardée.

4) Le M.I.F.

Les caractéristiques du M.I.F. ne sont pas encore toutes définies. (59)

.) Propriétés établies du M.I.F.

- La production du M.I.F. commence vers la 6ème heure après contact avec l'antigène et se prolonge pendant 4 jours.

- La production du M.I.F. implique une production "de novo" de RNA.

... / ...

• Détruite à 80° C et à - 20° C, l'activité inhibitrice est conservée après exposition à 56° C pendant 30 minutes.

• Les enzymes protéolytiques suppriment ces propriétés.

• L'acide sialique est un composant de l'activité du M.I.F.

• L'injection intra dermique du M.I.F. chez le cobaye détermine une réaction à partir de la 3ème heure, maximale à la 8-12ème heure et disparue à la 30ème heure. Cette réaction consiste en un érythème et une induration et correspond histologiquement dès la 4ème heure à un infiltrat mononucléé.

.) Corrélation du M.I.F. avec l'hyeprsensibilité retardée (HSR).

- BLOOM (17) la résume ainsi :

1) Le M.I.F. n'est produit que par les lymphocytes de sujets ayant une H S R.
2) Le M.I.F. n'est pas produit par les lymphocytes de sujets possédant seulement des anticorps circulants.
3) La production du M.I.F. requiert un immunogène et avec un antigène conjugué à une protéïne la spécificité est développée vis-à-vis du porteur.
4) Le M.I.F. n'est pas produit par les cellules d'un animal tolérant.

.) Un certain nombre de problèmes restent à étudier plus complètement (59).

a) Nature chimique du M.I.F.

*) La nature protéïque du M.I.F. semble suggérée par l'action des inhibiteurs de la synthèse protéïque. Néanmoins, on ne peut exclure la possibilité d'une action de la puromycine sur la membrane des lymphocytes.

*) Le M.I.F. n'est pas une immunoglobuline : on sait que le complexe antigènes-anticorps peut inhiber la migration des macrophages. Mais le M.I.F. provient de l'élution de la fraction contenant de l'albumine. Il est d'ailleurs possible que le M.I.F. soit un polypeptide dont l'albumine serait la proteine porteuse.

b) Libération du M.I.F. et transformation lymphoblastique.

* La transformation blastique des lymphocytes ne constitue pas un préalable indispensable à la production du M.I.F. puisque celui ci est présent 6 heures après exposition à l'antigène alors que la transformation est plus tardive.

*) Cependant, libération de M.I.F. et transformation lymphoblastique constituent deux phénomènes successifs dans la séquence d'évènements déclenchés par le contact lymphocyte sensibilisé-antigène. D'autre part, chez le cobaye, une stimulation non spécifique par la phyto-hémagglutinine déclenche à la fois la blastogenèse et la libération d'un facteur possédant les propriétés du M.I.F.

c) Mécanisme de l'inhibition de la migration des macrophages.

On pense généralement que le M.I.F. agit sur les macrophages en les rendant " collants ". Ainsi, lorsqu'on injecte dans la cavité péritonéale d'un cobaye sensibilisé une dose appropriée d'antigène, le nombre de macrophages présents dans l'exsudat recueilli, est considérablement réduit, comme si les cellules avaient adhéré aux parois péritonéales.
Au point de vue ultra-structural, les macrophages présentent des ponts cytoplasmiques et des vésicules intra cellulaires évoquant un processus proche de la phagocytose. Le mode d'action du M.I.F. pourrait être de nature enzymatique ou pharmacologique bien que rien ne permette de l'affirmer. Enfin, l'antigène pourrait intervenir directement dans l'inhibiton de la migration, parallèlement à son action sur les lymphocytes sensibilisés (BLOOM 16).

IV) DU TEST D'INHIBITION DE LA MIGRATION DES MACROPHAGES PERITONEAUX DE COBAYE (T.I.M.P.C.) AU TEST D'INHIBITION DE LA MIGRATION DES LEUCOCYTES CIRCULANTS CHEZ L'HOMME (T.M.L.).

L'apport du T.I.M.P.C. à la compréhension des mécanismes

effecteurs de l'hypersensibilité retardée a été considérable. Cependant, ce test n'était applicable qu'à l'expérimentation animale. C'est pourquoi, de nombreux auteurs se sont attachés à la mise au point de méthodes utilisables chez l'homme. Le problème à résoudre était celui de l'obtention facile d'une population cellulaire adéquate.

1) - THOR (87) décrit une technique employant les lymphocytes de ganglions humains puis une technique en deux temps, proche de celle de DAVID (89). Il utilise les lymphocytes humains circulants, mis en culture, 72 heures avec l'antigène et prélève le surnageant ; des cellules péritonéales de cobaye non sensibilisé servent de système migrant. Ceci introduit la notion controversée de la spécificité d'espèce du M.I.F. (2). D'autres auteurs (4) utilisent comme système migrant des macrophages alvéolaires de poumons humains.
Toutes ces techniques restent donc peu compatibles avec une étude à grande échelle chez l'homme.

2) - SOBORG et BENDIXEN (83) ont le mérite en 1967 de décrire une méthode utilisant uniquement, et en un temps, les leucocytes circulants humains. Une simple ponction veineuse suffit ainsi à fournir la population cellulaire nécessaire au T.M.L.

a) La technique du test sera détaillée plus loin.

b) Le principe général reste celui du test d'inhibition de la migration des macrophages de cobaye.

Les lymphocytes sensibilisés réagissent spécifiquement avec l'antigène. Ils libèrent un facteur soluble (analogue au M.I.F. de cobaye ?).

... / ...

Grâce à ce facteur soluble, la population cellulaire recueillie dans un tube capillaire et dont le devenir naturel est de " migrer " hors du tube, est inhibée et la migration diminuée.

Cependant, dans le système cellulaire employé un nouveau constituant apparait dont l'importance est loin d'être négligeable : il s'agit des granulocytes (polynucléaires), présents dans une proportion de 60 % environ pour 35 % de lymphocytes et 5 % de monocytes.

Doivent-ils être assimilés aux macrophages et considérés comme des " indicateurs de migration" ou possèdent-ils des propriétés différentes impliquant,"ipso facto ", un mécanisme différent de celui du T.I.M.M. P.C. ?

Des travaux de SOBORG (86) répondent en partie à ce problème : il utilise des chambres permettant la migration simultanée de deux tubes capillaires placés dos à dos et séparés par une barrière siliconée..

* Il étudie les migrations respectives de deux populations cellulaires :
- lymphocytes circulants
- leucocytes circulants non séparés (ie 60 % de granulocytes, 85 % de lymphocytes et 5 % de monocytes).

* et montre :
- que les leucocytes provenant d'un sujet sensibilisé, sont capables de conférer à une population de leucocytes non sensibilisés des propriétés de inhibitrices de la migration s'ils sont placés séparément dans la même chambre de culture.

- que les lymphocytes d'un sujet sensibilisé migrent sans aucune inhibition lorsqu'ils sont

cultivés isolément dans une chambre en présence de l'antigène.

- qu'au contraire, ces mêmes lymphocytes ont leur migration inhibée en présence d'antigène s'ils sont cultivés dans la même chambre que des leucocytes. Ces leucocytes pouvant provenir de sujets sensibilisés ou de sujets non sensibilisés à l'antigène.

Les granulocytes sont donc nécessaires au processus d'inhibition. Leur rôle se manifeste grâce à un mécanisme indépendant de tout contact cellulaire. Ce rôle n'est pas superposable à celui des macrophages dans le T.I.M.M.P.C. En effet, la substance inhibitrice de la migration semble être élaborée par une interaction entre les granulocytes et les lymphocytes, indépendamment de tout contact entre ces deux types cellulaires.

Deux explications sont avancées par SOBORG :

- les granulocytes modifient l'antigène. Le complexe ainsi obtenu forme avec le produit libéré par les lymphocytes sensibilisés, le principe inhibiteur de la migration.
- les granulocytes modifient le facteur libéré par les lymphocytes et lui confèrent une propriété inhibitrice qu'elle n'avait pas.

Quelles que soient les différences de mécanisme, le T.M.L. serait spécifique de l'hypersensibilité retardée et permettrait son étude facile in vitro chez l'homme.

c) Les résultats obtenus avec le T.M.L. ont fait l'objet de quelques controverses.

Ainsi certaines équipes (KALTREIDER et Coll 54, LOCKSHIN 66) ne réussissent pas à obtenir de résultats aussi reproductibles que SOBORG et ce, tout particulièrement avec

des antigènes solubles, tuberculine notamment. Il semble néanmoins que les difficultés rencontrées, tenaient à la non observation d'impératifs techniques en apparence mineurs, mais à eux seuls susceptibles de rendre les résultats ininterprétables : BENDIXEN et SOBORG (8), ROSENBERG et DAVID (80).

En effet, sous une simplicité apparente, le T.M.L. requiert un certain nombre de précautions quant à la réalisation technique, à l'interprétation des résultats, au choix des antigènes. Ainsi l'équipe de DAVID (80) vient récemment de confirmer la valeur et la reproductibilité du T.M.L. lorsque ces précautions sont observées.

d) En conclusion, comme le fait remarquer J.F. BACH (59) :

" même s'il ne s'agit pas à proprement parler de macrophages, ces cellules migrent et leur migration peut être spécifiquement inhibée par l'antigène... Cette méthode est l'une de celles qui peuvent avoir une utilisation en clinique humaine. ".

CHAPITRE III - IMMUNOLOGIE DE L'INFECTION STREPTOCOCCIQUE

Le streptocoque représente une mosaïque antigénique très riche. La réponse immunitaire qu'il détermine est donc extrêmement complexe et encore incomplètement éclaircie (DAVIS 32).

I LES ANTIGENES DU STREPTOCOQUE A :

A) Rappel de la structure générale de la bactérie :
Chaque streptocoque correspond à une cellule de constitution primitive comprenant : un noyau, un cytoplasme, une membrane cytoplasmique. A l'extérieur, se trouve une paroi rigide, véritable squelette de la bactérie : la paroi. Cette paroi est faite de trois couches superposées :

- une couche profonde de mureine, mucopolysaccharide, non spécifique du streptocoque mais propre au monde bactérien tout entier.
- une couche moyenne, pondéralement la plus importante, polysaccharidique.
- une couche superficielle protéïque.

Certaines souches peuvent être capsulées. La capsule faite d'un gel d'acide hyaluronique, se trouve en périphérie par rapport à la paroi.
Tels sont les constituants somatiques du germe.

B) Les antigènes du streptocoque sont beaucoup plus nombreux. A certains de ces constituants somatiques s'ajoutent, en effet, plusieurs substances extra cellulaires, sécrétèes par le germe et présentes dans les filtrats de culture (toxines, enzymes).

1)* ANTIGENES SOMATIQUES : parmi les antigènes somatiques, le polysaccharide et les protéïnes de la paroi sont les plus importants.

a) Le polysaccharide (encore appelé substance C) est le support de la spécificité de groupe. Il individualise le groupe A. Il s'agit d'un haptène constitué de rhammose (60%) et de N acétylglucosamine (25%) qui représente le déterminant antigénique essentiel. On l'obtient par extraction

acide à chaud (méthode de LANCEFIELD) ou en traitant le germe par la formamide (méthode de FOWLER).

b) Les antigènes protéïques de la couche superficielle de la paroi, permettent de subdiviser le groupe A en plus de 50 types sérologiques.

* De loin, le plus important est l'antigène M ou protéine M.
  - soluble dans l'alcool, résistant à l'ébullition (30 mn), il est détruit par les enzymes protéolytiques.
  - son importance tient à trois notions :
    - La protéïne M porte la spécificité de type
    - La protéïne M représente le facteur virulent sans doute du fait de son pouvoir antiphagocytaire.
    - Les anticorps dirigés contre la proteine M ont un pouvoir protecteur, cette protection étant spécifique de type et relevant sans doute de leur pouvoir opsonisant.
  - la pureté antigénique des proteines M hautement purifiées (méthode de FOX et WITTNER 41-42) est actuellement très controversée (HAVELICEK ALOUF 47)

* Les deux autres antigènes proteiques sont d'intérêt plus restreint.
  - L'antigène protéique T insoluble dans l'alcool, détruit par l'ébullition et résistant à la digestion enzymatique n'a pas de spécificité de type rigoureux (plusieurs types de streptocoques A peuvent aussi avoir le même antigène T), n'est pas lié à la virulence.

... / ...

- L'antigène proteique R n'est présent que dans trois types de streptocoque A.

c) Les autres antigènes somatiques (membrane, cytoplasme) sont encore mal connus.
ZABRISKIE et FRIEMER localisent l'antigène possiblement responsable de sensibilisation croisée avec les tissus cardiaques au niveau de la membrane (9I).

2) ANTIGENES EXTRA CELLULAIRES : Il s'agit de substances secrétées par le germe et présentes dans les filtrats de culture : très nombreuses (plus de 20), on ne citera que les principales :

a) Les hémolysines : ou streptolysines streptococciques. Au nombre de 2, O et S ; seule la streptolysine O est antigénique. Elle détermine l'élaboration par l'organisme infecté, d'anticorps antistreptolysine O décelés et titrés par une réaction d'inhibition de l'hémolyse. La streptolysine O n'est pas spécifique du groupe A.

b) La toxine érythrogène : élaborée par certains streptocoques du groupe A, serait à l'origine des manifestations cutanéo-muqueuses et toxiques de la scarlatine. Antigénique, elle détermine la formation de trois types d'anticorps responsables de l'immunité contre cette maladie.

c) La fibrinolysine : streptokinase : n'est pas spécifique du streptocoque A. Elle active le plasminogène en plasmine.

d) Citons encore :
- les streptodornases ou desoxyribonucléases
- la NAD ase ou DPN ase
- la hyaluronidase
- la protease
- l'amylase
- la DN ase.

... / ...

II REPONSE IMMUNITAIRE A L'INFECTION STREPTOCOCCIQUE

Toute réaction immunitaire comporte deux aspects en fait étroitement dépendants l'un de l'autre.

- une réponse humorale (anticorps circulants)
- une réponse à médiation cellulaire directe (hyper sensibilité retardée).

A) LES ANTICORPS ANTISTREPTOCOCCIQUES sont nombreux :

1* " Certains ne sont que le témoin de l'infection et n'ont ni rôle protecteur, ni effet nocif démontré " (GRISCELLI 45).

Ils ont donc avant tout une valeur diagnostique d'infection streptococcique. Il en est ainsi des anticorps:

- anti streptolysines O, anti hyaluronidase.
- anti streptokinases, anti DPN ase, anti protease.

2* D'autres ont un rôle protecteur :

a) Les anticorps dirigés contre la toxine érythrogène (négativité de la réaction de DICK chez le sujet ayant fait une scarlatine).

b) Les anticorps dirigés contre la proteine M.

Ce rôle protecteur s'extériorise, in vitro, par leur pouvoir opsonisant et in vivo, chez la souris qui résiste grâce à un anti sérum anti protéine M à une dose léthale de streptocoque A du même type.

Cette notion a fait envisager la possibilité d'une vaccination dans le cadre de la prévention du RAA.

L'inocuité d'une telle vaccination avec un pool de proteines M purifiées reste à démontrer.

3* Certains anticorps, enfin, auraient un effet nocif.

Il s'agit d'anticorps dirigés contre le streptocoque, qui réagissent àussi avec des constituants de l'organisme, tissus cardiaques notamment.

... / ...

Ces réactions croisées sont actuellement démontrées. Elle posent au moins deux problèmes :

- celui de la réalité du rôle nocif des anticorps pour les tissus cardiaques (dans le R.A.A. notamment)
- celui de la nature de l'antigène streptococcique responsable de cette sensibilisation croisée.
  + proteine M pour certains (KAPLAN 55)
  + membrane cellulaire pour d'autres (ZABRISKIE 9I).
  + Polysaccharide C (GOLDSTEIN 44).

B) REPONSE A MEDIATION CELLULAIRE :

Ce type de réaction est encore très mal connu : ceci tient aux difficultés rencontrées, jusqu'à ces dernières années, dans l'étude in vitro de l'HSR ainsi qu'à la complexité antigénique du germe.

1) L'hypersensibilité retardée streptococcique expérimentale a été étudiée chez le cobaye par DEKARIS, FAURE, ALOUF et RAYNAUD (34)..
Ces auteurs sensibilisent des cobayes avec des suspensions de bactéries tuées par la chaleur, mélangées à de l'adjuvant complet de FREUND. Ils étudient l'allergie obtenue par des tests cutanés intra dermiques, la recherche d'anticorps (par anaphylaxie cutanée passive) ainsi que par le test d'inhibition de l'étalement des macrophages (I.E.M.).

Les tests pratiqués avec des extraits acides de corps bactériens, montrent que deux types d'hyper-

sensibilité ont été induits simultanément :

- une hypersensibilité de type immédiat, avec anticorps circulants, dont attestent :
  - une réaction cutanée précoce
  - le transfert par anaphylaxie cutanée passive.
- une hypersensibilité de type retardée avec réaction cutanée retardée et positivité du test d'I.E.M.

En fractionnant l'extrait acide brut, ils séparent un certain nombre de produits d'activité variable. Avec certains d'entre eux, ils objectivent les 2 types d'hypersensibilité. Seul l'un d'eux détermine uniquement une réponse de type retardée à l'exclusion de toute réponse immédiate avec anticorps circulants. Cette réaction retardée est particulièrement intense. Il est à noter qu'aucune des fractions ne contenait de proteine M puisque provenant d'une souche non virulente dépourvue de ce constituant.

2) DRACH et WAHL (35) pensent que les antigènes responsables de l'allergie retardée streptococcique se trouvent dans une proteine pariétale distincte de la proteine M. L'allergie ainsi objectivée n'est pas spécifique de type.

3) FOX (42 - 73) travaillant chez l'homme avec des proteines M purifiées, montre que la réaction intra dermique obtenue après injection de proteine M purifiée, est de <u>type semi retardée, et retardée</u>, débutant à la 6ème heure, maximale à la I8ème, disparue à la 72ème heure.

4) Lors de ses travaux sur le transfert de l'hypersensibilité retardée aux antigènes streptococciques LAWRENCE (62-63) obtient une réponse cutanée de type retardé chez plus de 80% des sujets humains testés avec :

- des streptocoques tués par la chaleur,
- une association streptokinase-streptodornase
- une proteine M <u>partiellement</u> purifiée.

Chez des sujets à tests intra dermiques négatifs à

ces trois antigènes, il positive ces tests par transfert de leucocytes provenant de sujets positifs puis par des fractions sub-cellulaires de ces mêmes leucocytes ("transfer factor").

5) HENOCQ, ALOUF et RAYNAUD -(48) utilisant deux préparations streptococciques (corps microbiens tués par la chaleur et filtrat brut contenant les " exoprotéines " streptococciques) obtiennent des réactions cutanées de type retardé dans les deux cas.

6) ZABRISKIE et Coll. ont, dans un travail récent (92), étudié in vitro l'hypersensibilité retardée anti-streptococcique chez l'homme. Leur but était d'étudier le rôle éventuel d'une sensibilisation streptococcique dans la genèse et l'entretien de glomérulo-néphrites chroniques.

Les antigènes comprenaient :

- des parois bactériennes
- une protéine M partiellement purifiée
- une préparation contenant les antigènes de la membrane du germe.

Deux tests in vitro furent utilisés : une technique d'inhibition de la migration des leucocytes (MOLLER) et un test de transformation lymphoblastique.

Deux populations de sujets MALADES ont été étudiées :

- Dans la première, atteinte de néphropathies non glomérulaires (reins polykystiques, pyélonéphrites), l'hypersensibilité retardée anti-streptococcique in vitro était faible.
- Dans la seconde, atteinte de glomérulonéphrite chronique, elle était plus marquée surtout pour l'antigène de membrane.

*
* *

Il n'est donc pas possible à partir des connaissances actuelles de dégager un schéma simple de l'hypersensibilité retardée anti-streptococcique. On peut dire qu'elle existe chez la plupart des adultes dans une population normale, que certains antigènes du streptocoque l'induisent plus que d'autres.

La purification complète des différents antigènes du streptocoque (qui est loin d'être achevée) et l'étude in vitro à grande échelle de l'HSR pour chacun de ces antigènes, sont seules susceptibles de fournir un " profil " valable de l'hypersensibilité retardée anti-streptococcique chez l'homme normal.

Le rôle de ce type d'hypersensibilité en pathologie resterait alors à déterminer.

*
* *

CHAPITRE IV - L'ALLERGIE STREPTOCOCCIQUE EN CLINIQUE.

Il s'agit d'un chapitre difficile et controversé. Il implique en effet que le mécanisme allergique soit admis dans la pathogénie du syndrome clinique étudié, et que le streptocoque soit reconnu comme agent sensibilisant ou co-sensibilisant responsable.

La difficulté du problème relève au moins de trois notions :

. La pathogénie exacte des syndromes où une allergie streptococcique est présumée, reste bien souvent imprécise.

. Les possibilités d'exploration sont le plus souvent limitées aux observations cliniques et à certaines techniques allergologiques d'interprétation difficile. (tests cutanés) (tests de provocation).

. La compléxité antigénique du streptocoque et les connaissances relativement peu étendues sur la réponse immunitaire qu'il détermine ne simplifient pas la question. Ces incertitudes incitent à une attitude nuancée, ni trop permissive et enthousiaste, ni négativiste, d'autant que les succès thérapeutiques de " désensibilisation spécifique " bien conçue dans ses indications et sa réalisation, ne sont pas rares. Même s'ils sont mal expliqués, ils sont bénéfiques pour le malade.

On considérera successivement, les syndromes cliniques dans lesquels une allergie streptococcique est possible, puis les critères disponibles pour suspecter ce mécanisme.

A) Maladies dans lesquelles une allergie streptococcique est possible.

1) Pathologie respiratoire :

- asthme : l'allergie microbienne et notamment streptococcique isolée est rare par rapport aux autres causes. Plus souvent, il y a co-sensibilisation.

- le même phénomène s'observe pour les rhinites et les trachéites allergiques.

2) PATHOLOGIE CUTANEE :

a) Eczéma : " Les allergènes microbiens jouent dans l'eczéma un rôle plus important qu'on ne le croyait récemment. Le streptocoque est, parmi eux, le plus fréquemment en cause. La difficulté majeure, dans le diagnostic de ces eczémas, consiste à les distinguer des dermites microbiennes eczématiformes. La ressemblance est telle que de nombreux dermatologistes les groupent sous le nom d' " eczémas microbiens ". Ce terme risque d'entretenir la confusion, tandis qu'il importe, pour traiter le malade, de faire la part de la dermite microbienne initiale et de l'eczéma proprement dit par allergie microbienne ". (HEWITT et SCLAFER 49). Selon DEGOS (33), il s'agit, soit d'une action locale (de type allergique) du germe, comme le ferait un autre réactogène sur un terrain sensibilisé, soit d'une action à distance, suivant le mécanisme des réactions secondes, le foyer initial étant cutané, muqueux ou viscéral.

b) " Allergies vasculaires cutanées " (HEWITT et SCLAFER 49).

- Lésions allergiques des gros vaisseaux sous-cutanés.

  Les altérations inflammatoires de gros vaisseaux de l'hypoderme et du plexus sous-dermique produisent des nodules sous-cutanés. Ces hypodermites nodulaires sont aigues, subaigues ou chroniques.

  - L'hypodermite nodulaire aigue (érythème noueux) est souvent d'origine streptococcique. (DEGOS 33). Les lésions vasculaires traduisent plus la réaction allergique que l'atteinte infectieuse.
  - Le rôle du streptocoque dans les hypodermites nodulaires subaigues est souvent suspecté. Un streptocoque aérobie a été identifié dans les lésions (DEGOS HEWITT 33). DUPERRAT (36) sur une série de 25 cas, trouve dans 4 cas une étiologie streptococcique.

• Lésions allergiques artériolo-capillaires.

L'étiologie streptococcique, constamment invoquée, est ici rarement démontrée. Ce type de lésions, artériolo-capillaires, recouvre :

- les purpuras vasculaires du type Schonlein.Henock
- les allergies nodulaires dermiques du trisymptome de Gougerot. Cet ensemble symptômatique correspond à l'association de petites nodosités arrondies dermiques ou dermo-hypodermiques dures, de macules purpuriques et d'éléments érythémato-papuleux ressemblant à l'érythème polymorphe.
  L'image histologique, décrite par GOUGEROT et DUPERRAT, est évocatrice d'un mécanisme allergique

Cette pathologie vasculaire allergique a des frontières nosologiques imprécises ; des faits de passage s'observent depuis les purpuras vasculaires jusqu'à certains cas de péri-artérite noueuse.

C) Urticaire et Oedème de QUINCKE : Sans entrer dans les discussions nosologiques sur la dualité de ces deux affections, le rôle étiologique d'une sensibilisation microbienne y est depuis longtemps établi (9 - 11 - 12). On sait ainsi que l'éradication d'un foyer infectieux peut suffire à guérir définitivement une urticaire désespérément chronique. Ces cas sont néanmoins relativement rares mais incitent à une enquête approfondie.

3) PATHOLOGIE OCULAIRE.

L'allergologie connait en ophtalmologie un essor justifié par les résultats thérapeutiques. (14-56) L'allergie bactérienne, et notamment streptococcique, peut être responsable de blépharites, de kératites, d'atteinte des tuniques mésodermiques (Uvéites, iritis, chroroïdites), de phlébites et d'hémorragies

.../...

rétiniennes récidivantes. L'enquête allergologique doit être, dans ces cas, particulièrement prudente et devrait bénéficier au premier chef des tests in vitro (cf infra).

4) PATHOLOGIE ARTICULAIRE :

Le cadre des rhumatismes par allergie streptococcique est mal défini et très controversé.

Pour COSTE et Coll (24), à côté du rhumatisme articulaire aigu (pour lequel les conceptions sont en pleine évolution et s'orientent vers une pathologie auto-immune déclenchée par l'infection streptococcique), l'allergie streptococcique ne peut être vraiment incriminée que dans les rhumatismes subaigus curables de l'adulte.

Le problème des rhumatismes inflammatoires chroniques suscite beaucoup plus de discussions.

Ainsi, certains auteurs (74 - 75 - 76) ont-ils amélioré par " désensibilisation spécicifique " des " polyarthrites chroniques par allergie streptococcique ". Pour COSTE (25) de telles observations doivent être analysées avec prudence et ne permettent aucune conclusion définitive.

5) L'ATTEINTE D'AUTRES ORGANES EST POSSIBLE.

Elle n'a pas fait l'objet d'enquêtes allergologiques.

B) Critères actuellement disponibles pour le diagnostic d'une allergie streptococcique.

1) Ils sont essenstiellement cliniques :

a) L'aspect clinique de l'affection n'a qu'une valeur d'orientation.

b) La pérennité de manifestations asthmatiques ou O.R.L., indépendante de l'environnement, ne fait qu'orienter vers une "cause interne".

c) Pratiquement, deux critères sont exploitables :

*- La découverte d'un foyer infectieux dont la cure radicale guérit de façon spectaculaire et durable, des manifestations jusque là chroniques et subintrantes. Cependant, cet argument ne fait qu'accréditer la thèse d'une allergie microbienne. Même si le streptocoque A est mis en évidence au niveau de ce foyer, il n'est en aucun cas possible d'affirmer formellement l'allergie streptococeique.

*- En fait, la réaction syndromique constitue, en définitive, le seul critère solide de l'allergie streptococcique.

I) Définition de la réaction syndromique :

Lorsqu'on introduit par voie intra-dermique (ou sous-cutanée) une dose appropriée de streptocoque A, quatre réactions sont possibles, parfois associées :

* Une réaction locale :sur laquelle repose le principe des tests intra-dermiques. Dans le cas du streptocoque A, la réponse cutanée est rarement immédiate (allergie de type I), parfois semi-retardée (entre 6 et 24 h, type III), le plus souvent retardée (au-delà de 24 h et jusqu'à la 72ème h, type IV).

... / ...

* Une réaction focale rare : Il s'agit du réveil ou de l'exacerbation du " focal sepsis ".

* Une réaction générale : fébrile.

* Une réaction syndromique enfin : dans les 48 heures après la pratique des tests cutanés, il s'agit de la reproduction du symptôme ou de la lésion pour laquelle une allergie streptococcique est soupçonnée. Ainsi, un asthmatique fera une attaque d'asthme violente, un eczémateux, une poussée d'eczéma. Parfois, bien que plus rarement, l'introduction de l'allergène détermine une sédation spectaculaire de la maladie (réaction syndromique d'amélioration).

De ces quatres réactions, seule la réaction syndromique possède une valeur étiologique. Elle seule permet de faire la relation entre la sensibilisation au germe (dont témoigne la positivité des intra-dermo réactions) et la responsabilité de cette sensibilisation dans le déterminisme des troubles dont souffre le malade.
Le seul critère d'allergie streptococcique réside donc en l'état actuel des connaissances dans la recherche de cette réaction syndromique. On conçoit la rigueur nécessaire à sa mise en évidence.

II) Mode de recherche de la réaction syndromique.

Les syndromes cliniques étudiés ayant souvent une évolution capricieuse, il est bon de choisir une période de sédation.
Le malade ne doit pas recevoir de corticothérapie lors de l'exploration. L'interprétation objective des résultats est largement favorisée par la pratique de l'épreuve en double aveugle. En cas de doute, il convient de pratiquer un test de provocation, réalisé de la façon suivante :
- le malade reçoit deux injections sous cu-

tanées espacées d'une semaine. L'une contient la dose appropriée de streptocoques A tués par la chaleur, l'autre comporte un placébo (sérum salé isotonique). Le malade ignore la nature des injections. Le médecin ignore l'ordre dans lequel l'infirmière les a réalisées. Il n'en est informé qu'après avoir analysé par l'interrogatoire et l'examen clinique, les manifestations ayant pu se produire au décours de chacune des injections.

III) Discussion de la réaction syndromique :

La réaction syndromique suscite un certain nombre de remarques :

Sur le plan pratique :

* L'affirmation indubitable d'une telle réaction implique plusieurs semaines d'exploration.
* Son principe consiste à déclencher une réactivation des symptômes ce qui n'est pas toujours accepté par un malade plus ou moins stabilisé. Dans certaines maladies, cette réactivation n'est pas sans risques. Il en est ainsi des affections oculaires (uvéites), de certaines allergies vasculaires dans lesquelles une atteinte rénale peut survenir.

Mais les critiques les plus sévères sont d'un autre ordre :

* Les maladies étudiées ont en général un potentiel évolutif capricieux. Il est donc parfois malaisé d'affirmer que l'aggravation obtenue au décours du test est bien en rapport avec l'introduction du germe et qu'elle ne résulte pas d'une simple poussée de la maladie, indépendante de ce test.

* D'autre part et surtout, lorsque l'aggravation semble indubitablement déclenchée par le test, se pose le problème de la SPECIFICITE du phénomène. Cette critique peut être atténuée par la pratique d'une nouvelle provocation avec un germe différent qui doit alors être négative. Ceci augmente encore le temps d'exploration.

  La nécessité d'une donnée biologique fournie par un test in vitro de réalisation facile est ainsi manifeste.

2) Les critères biologiques sont pourtant actuellement très limités.

* Le problème à résoudre, très complexe, s'énonce en effet, de la façon suivante :

  1) le test utilisé doit explorer l'immunité anti-streptococcique d'une telle façon qu'il existe une corrélation avec les tests cutanés intra-dermiques pratiqués avec des suspensions bactériennes. Mais cette condition nécessaire n'est pas suffisante.

  2) Il faut surtout (et il suffit peut-être) qu'une corrélation soit établie entre un paramètre d'exploitation du test in vitro et un critère d'allergie streptococcique. On a vu que le seul critère actuellement disponible était la réaction syndromique. Il est donc nécessaire de comparer les résultats obtenus in vitro à l'existence ou à l'absence d'une telle réaction.

* Les méthodes utilisables.

  1) Le dosage des anticorps anti-proteines M pourrait être intéressant. Il est encore du domaine de la recherche.

  2) Le dosage des anti-streptolysines O n'est d'aucun secours.

... / ...

3) Le tèst de transformation lymphoblastique (TTL) a été introduit en France par l'équipe de B.N. HALPERN. Il constitue un progrès certain mais des études semblent encore nécessaires pour affirmer son intérêt dans le cas particulier des allergies streptococciques compte tenu des règles énoncées plus haut.

* B.N. HALPERN et Coll (46-57) ont utilisé le TTL en présence d'une préparation de protéines M de streptocoques A. Ils ont montré que chez 30 malades atteints de "... maladies allergiques d'origine streptococcique probable ... " (sur l'aspect clinique et évolutif), les taux de transformation étaient plus importants que chez... " 8 individus normaux avec tests positifs au streptocoque... ".

* Nous avons, dans le Service du Pr. R. WOLFROMM, comparé les résultats de TTL en présence de corps bactériens tués par la chaleur chez deux groupes de malades (82) :
  - sujets à tests cutanés positifs,
  - sujets ayant, en plus, fait une réaction syndromique.

  Il ne nous a pas été possible de dégager de différence statistiquement significative entre les deux groupes.

* Ces discordances tiennent semble-t-il surtout à l'utilisation de matériel antigénique différent, mais peut être aussi, à une différence dans la ségrégation des malades.

4) Le test d'inhibition de la migration des leucocytes du sang périphérique a une signification immunologique différente de celle du TTL (cf supra). Sa corrélation exclusive avec l'existence d'une hypersensibilité retardée permet une approche nouvelle du problème.

Un travail préliminaire nous a permis (51) de penser que son utilisation dans l'étude de allergies streptococciques n'était pas dépour vue d'intérêt. Le travail présenté ici confirme cette impression.

3) Le critère thérapeutique.

L'amélioration durable sous "désensibilisation spécifique" fournit a posteriori, un argument non négligeable. Etant donnée la durée de ce type de traitement étalé sur plusieurs mois ou années, il ne doit en aucune façon constituer un critère diagnostique sous peine, en cas d'échec, de déconsidérer les techniques de désensibilisation.

La survenue de " réactions de dépassement " (ie. aggravation lorsqu'on dépasse une certaine dose, variable d'un malade à l'autre) constitue, en cours de désensibilisation, un argument de même valeur qu'une réaction syndromique.

CHAPITRE IV TRAVAUX PERSONNELS

Compte tenu des difficultés rencontrées dans l'étude des allergies streptococciques in vivo, la nécessité de données biologiques est évidente.

Elles pourraient étayer et confirmer les arguments tirés de l'enquête allergologique clinique, voire se substituer à elle lorsqu'elle est dangereuse.

Elles pourraient aussi fournir des explications physiopathologiques aux symptômes observés.

C'est pourquoi il a semblé intéressant d'appliquer le T.M.L. à l'étude des allergies streptococciques chez l'homme.

MATERIEL ET METHODES.

1 - Test d'inhibition de la migration des leucocytes du sang périphérique humain (T.M.L.)

La technique utilisée est celle de SOBORG et BENDIXEN (83) modifiée par MULLER-BERAT et MOULIAS (71).

- Prélèvement et préparation : 30 ml de sang sont prélevés par ponction veineuse dans une seringue héparinée (héparinate de calcium : 1 ml, à l'exclusion de toute autre héparine). Le sang recueilli dans un tube stérile sédimente à la température du laboratoire pendant 2 heures. On prélève, à l'aide d'une pipette stérile, le plasma riche en éléments blancs ainsi que la partie toute supérieure du

culot de sédimentation. Les éléments cellulaires sont séparés du plasma par centrifugation à 1000 tours/minute pendant 10 minutes. Le surnageant est rejeté. Le culot globulaire est lavé trois fois dans du milieu I99 de l'Institut Pasteur. Après chaque lavage, la suspension est centrifugée 10 Minutes à 1000 tours par minute. Au décours du troisième lavage, le culot globulaire est remis en suspension dans du milieu 199 enrichi de 10 % de sérum de poulain de l'Institut Pasteur, de façon à obtenir une concentration de 60 à 70 millions de cellules par millilitre. Cette suspension est recueillie dans des tubes capillaires à micro-hématocrite, stériles et héparinés (longueur : 80 mm, diamètre interne : 1 mm). Il convient, après avoir rempli chaque tube capillaire, de veiller à remettre les cellules en suspension homogène avant de remplir le tube capillaire suivant. Chaque tube capillaire est rempli aux 2/3 et obturé à la flamme à l'extrémité dépourvue de cellules. L'ensemble des tubes capillaires est centrifugé à 3000 tours par minute pendant 10 minutes. Chaque tube est sectionné à la partie supérieure du culot globulaire et placé horizontalement dans une chambre de migration en verre stérilisée (170°C pendant 3 heures) et siliconée. Les chambres de migration sont scellées sur une plaque de verre qui en comporte dix (Fig 1). Le tube est fixé à l'aide de pâte siliconée (Dow Corning corp.). La chambre de migration est aussitôt remplie de milieu 199 enrichi de 10 % de sérum de poulain avec ou sans antigène. La chambre est rapidement recouverte de façon parfaitement étanche à l'aide d'une lamelle de verre stérile scellée à la pâte siliconée. Puis les plaques sont placées horizontalement à l'étuve à 37°C pendant 20 heures.

- Lecture.

Elle se fait par planimétrie. L'aire de migration

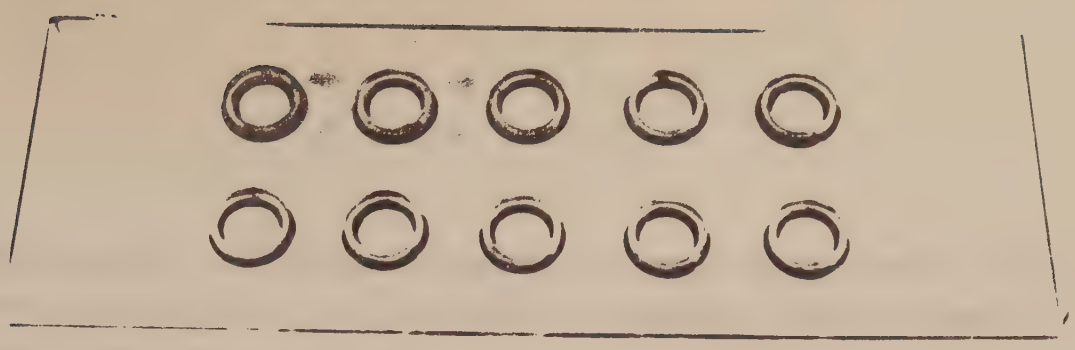

FIGURE I - Plaque de verre sur laquelle sont scellées dix chambres de migration siliconées.

FIGURE II - Migration témoin en l'absence d'antigène.

FIGURE III - Migration en présence d'antigène = inhibition de 50 %.

est agrandie et réfléchie sur une surface horizontale. Les aires de migration ont en règle un conteur régulièrement curviligne (Fig 2 et 3).

Seule la plus grande circonférence est mesurée sans tenir compte d'un éventuel halo inclus plus sombre (80).

Pour chaque test on pratique 4 migrations témoins (milieu 199 + 10 % de sérum de poulain) et 4 migrations pour chaque concentration antigénique. La série est ininterprétable si, au sein d'un même groupe, les surfaces de migration sont trop différentes (différence supérieure à 15 %).

- Expression des résultats :

On additionne les surfaces de migration dans le groupe témoin (T) que l'on compare à la somme des surfaces de migration en présence d'une même concentration d'antigène (A).

L'index de migration (TM) est donné par la formule :

$$IM = \frac{MA}{MT}$$

Le pourcentage d'inhibition est donné par la formule :

$$\% I = 100 - IM$$

Le résultat du TML s'exprime en pourcentage d'inhibition maximale obtenu dans la gamme antigénique utilisée. Le seuil de positivité sera discuté plus loin.

2 - Antigène.

Il s'agit de l'antigène préparé par l'Institut Pasteur. Il comporte un mélange de streptocoques A des groupes 3 - 11 - 12 - 14 - 23 - 28 tués par la chaleur (1 heure à 65°C), (le titre étant déterminé par opacimétrie). On prépare dans du ClNa à 9 p. 1000 des suspensions contenant

2 milliards, 200 millions, 20 millions et 2 millions de germes par millilitre. Avant chaque test I/IO de ml de chacune de ces suspensions est repris dans 4,9 ml de milieu 199 enrichi de 10 % de sérum de poulain. On obtient ainsi des suspensions microbiennes dans le milieu de culture contenant approximativement 40 000 000, 4 000 000, 400 000 et 40 000 germes par millilitre.

L'ensemble du travail a été réalisé avec une suspension microbienne provenant d'un seul et même lot de façon à éliminer les variations relatives en concentration d'un échantillon à l'autre.

3 - Tests cutanés.

Ils sont pratiqués par voie intra-dermique, à la face externe du bras, en utilisant le mélange de streptocoque A de l'Institut Pasteur (cf supra). Chaque injection comporte 20 millions de germes (I/IO de ml de la suspension phénolée à 5 % contenant 200 millions de germes par millilitre)

Un témoin comportant I/IO de ml de solution de ClNa à 9 p. 1000, phénolée à 5 %, est toujours pratiqué conjointement. La lecture faite à la 24ème et 48ème heure est notée de façon suivante :

- oedème 5 à 10 mm (+)
- oedème 10 à 15 mm (++)
- oedème 15 à 20 mm (+++)

4 - Malades étudiés.

a) Mode de sélection : les 68 sujets retenus pour cette étude étaient tous atteints de maladies dans lesquelles un facteur allergique pouvait être incriminé. Ils ont donc tous subi, dans le cadre d'un Service hospitalier spécialisé,

une enquête allergologique comportant notamment une batterie de tests cutanés (poussière de maison, pollen, candida albicans, staphylocoque, streptocoque A) dans les semaines précédant le T.M.L. (4 semaines au minimum).

L'âge des malades s'étage de 19 à 62 ans, le plus grand nombre se situant vers 40 ans. Ces sujets ne recevaient pas de traitement corticoïde.

Sur les 68 malades, il y a 29 hommes et 39 femmes.

Les syndromes cliniques se répartissent en :

- 11 eczémas
- 10 affections oculaires (uvéites)
- 8 syndromes articulaires (arthropathies aigues inflammatoires ou arthropathies chroniques séro-négatives).
- 6 urticaires ou oedème de Quincke récidivants
- 7 érythèmes noueux
- 26 asthmes.

b) Les résultats de l'enquête allergologique permettent de les séparer en 3 groupes.

Groupe 1 : 14 malades dont les tests cutanés intra dermiques à 20 millions de germes sont négatifs. Il s'agit de 5 asthmes, 3 eczémas, 3 affections oculaires, 2 érythèmes noueux, 1 urticaire.

Groupe 2 : 32 malades dont les tests intra-dermiques à 20 millions de germes sont positifs. Il s'agit de 13 asthmes, 6 eczémas, 4 érythèmes noueux, 3 affections oculaires, 3 syndromes articulaires, 3 urticaires.

Groupe 3 : 22 malades dont les tests intra-dermiques sont positifs et qui, au décours du test, ont présenté une réaction syndromique d'aggravation (I8 cas) (parfois

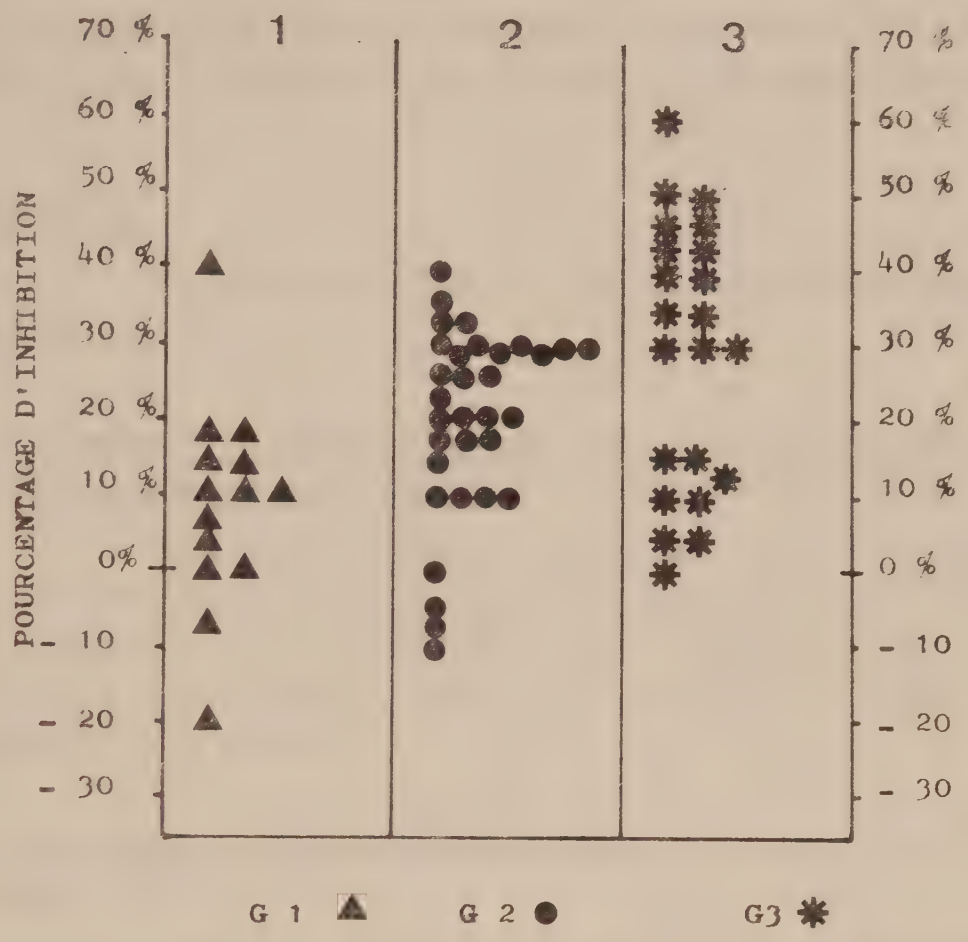

FIGURE 4

Résultats de T.M.L. (inhibition maximale obtenue dans la gamme antigénique) chez les sujets à tests intra dermiques négatifs (groupe 1 (G 1) ▲) à tests intra dermiques positifs (groupe 2 (G 2) ●) à tests intra dermiques positifs et réaction syndromique (groupe 3 (G 3) ✱).

contrôlée par un test de provocation en double aveugle comportant un placebo) ou d'amélioration (4 cas). On trouve dans ce groupe : 8 asthmes, 5 syndromes articulaires, 4 affections oculaires, 2 eczémas, 2 urticaires, 1 érythème noueux.

RESULTATS

Les résultats des 68 T.M.L. sont représentés sur la figure 4.

1 - Comparaison du résultat du T.M.L. et du résultat des tests cutanés intra-dermiques (groupes 1 et 2 de la figure 4)

Les pourcentages d'inhibition maximale obtenus dans la gamme antigénique sont significativement plus élevés chez les sujets à tests cutanés positifs (groupe 2) que chez les sujets à tests cutanés négatifs (groupe 1) : U de MANN et WITHNEY, $p = 0.003$.

2- Résultats et réaction syndromique (groupes 2 et 3 de la figure 4).

Chez les sujets du groupe 3 (réaction syndromique) les pourcentages d'inhibition maximale obtenus dans la gamme antigénique sont significativement plus élevés que ceux du groupe 2 (sans réaction syndromique) : U de MANN et WITHNEY, $p = 0.023$.

3 - Reproductibilité du test (figure 5).

Douze tests ont été réalisés en double : chaque malade étant testé 2 fois le même jour, les doses antigéniques employées étant identiques ; 8 de ces 12 tests de reproductibilité ne concernent pas des malades de ce protocole.

Les valeurs obtenues chez le même malade, le même jour, à la même concentration antigénique, sont très voisines.

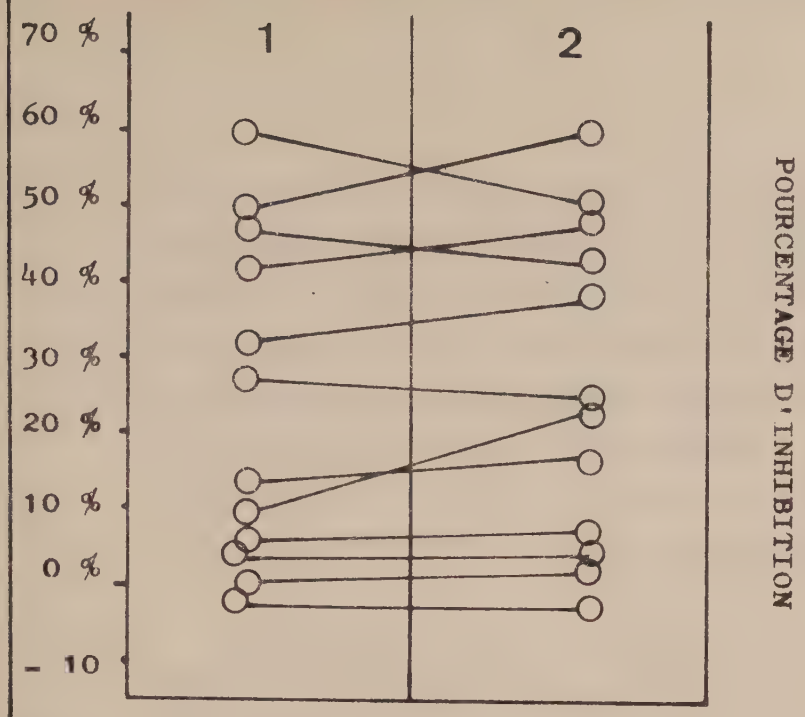

FIGURE 5

Comparaison des résultats de 2 T.M.L. (1 et 2) pratiqués le même jour, chez un même malade à la même concentration antigénique (12 cas).

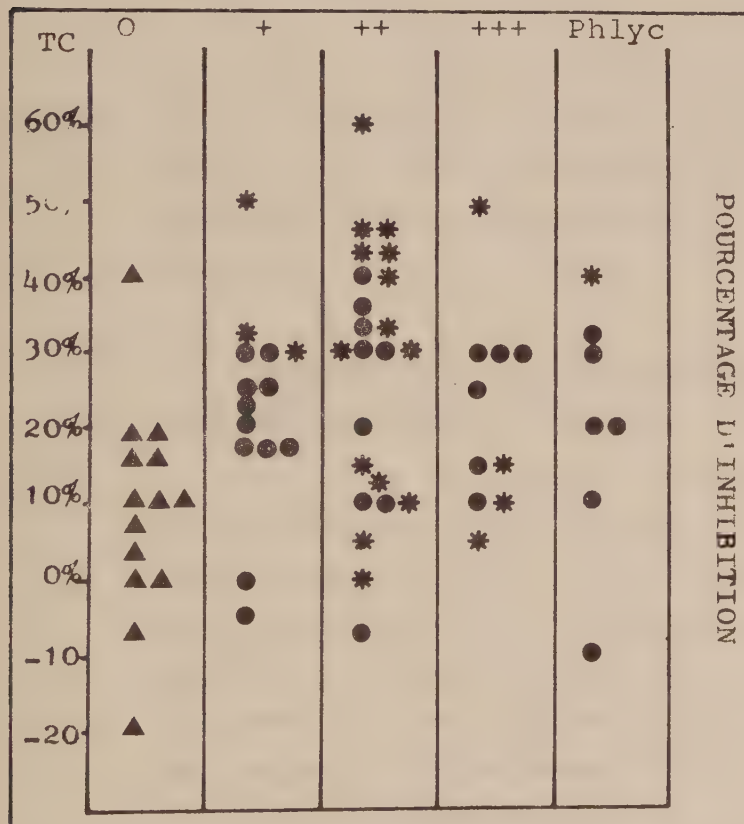

FIGURE 6

Corrélation entre l'intensité de la réponse cutanée à 20 millions de germes et le pourcentage d'inhibition maximum obtenu dans la gamme antigénique.

Groupe 1 : ▲

Groupe 2 : ●

Groupe 3 : ✱

Sur les 12 tests réalisés en double, les différences entre les deux pourcentages d'inhibition chez un même malade sont faibles : 12,5 % dans un cas, 10 % dans 2 cas, 5 % dans 3 cas, inférieures à 5 % dans 6 cas. Ces résultats ne permettent pas de dégager de différences significatives entre les 2 groupes de valeurs obtenues (p supérieur à 10 à l'épreuve du signe ; p supérieur à 0,05 à l'épreuve de Wilcoxson qui tient compte des valeurs absolues). Le test est donc reproductible.

4 - Comparaison entre l'inhibition maximale in vitro dans la gamma antigénique et l'intensité du test cutané intra-dermique (figure 6).

Il n'existe pas de corrélation entre l'intensité du test intra-dermique à 20 millions de germes et le pourcentage d'inhibition obtenu in vitro. Ainsi, par exemple, une inhibition à 30 % correspond aussi bien à une intra-dermo réaction faiblementpositive (+) qu'à une réponse phlycténuclaire.

5 - Influence de la concentration antigénique sur le pourcentage d'inhibition (Figures 7 et 8).

La figure 7 rassemble les valeurs obtenues chez les 68 malades, pour chacune des concentrations antigéniques de la gamme utilisée ; ces valeurs sont dispersées pour une même concentration antigénique. Il n'a pas été trouvé de différence significative entre l'ensemble des valeurs correspondant à une concentration antigénique et l'ensemble des valeurs correspondant à une autre concentration (épreuve du signe, p supérieur à 0.10). Alors que 68 malades ont été testés, chacune des colonnes de la figure 7 ne comporte que 50, 61, 52 et 49 valeurs respectivement. Ce fait illustre des

écueils techniques que l'on développera plus loin.

Sur la figure 8 sont représentés, à titre d'exemple, les pourcentages d'inhibition obtenus chez 10 malades pour chacune des 4 concentrations antigéniques de la gamme choisie. Il existe de grandes variations, chez le même malade, d'une concentration à l'autre.

6 - Comparaison des résultats de 2 T.M.L. pratiqués chez un même malade à plusieurs semaines d'intervalle, en utilisant une gamme antigénique différente.

16 malades de ce protocole avaient subi un T.M.L. lors d'un travail préliminaire (51). Les doses antigèniques étaient de I0.000 et 20.000 germes / ml. La figure 10 montre qu'il existe de grandes variations dans 6 cas sur I6. Cependant, l'ensemble des valeurs obtenues avec I0.000 ou 20.000 germes / ml n'est pas significativement différent de l'ensemble des valeurs obtenues, plusieurs semaines plus tard, avec 40.000, 400.000, 4.000.000 ou 40.000.000 de germes par ml : p supérieur à 0.I0 (épreuve du signe), p supérieur à 0.05 (Wilcoxson).

DISCUSSION

1 - Technique.

La réalisation technique du T.M.L. doit obéir à un certain nombre d'impératifs. La migration hors du tube capillaire est parfois variable d'un tube à l'autre. Ceci semble en rapport avec des variations dans le niveau de section du tube capillaire, qui doit être réalisé par le même opérateur en tenant compte de l'aspect de la partie supérieure du culot de centrifugation. Ces variations au sein d'une même série de migration (supérieures à I5 %) nous ont obligés à éliminer un certain nombre de résultats comme le montre la figure 7. Elles rendent compte de la nécessité de

pratiquer plusieurs migrations pour la même concentration antigénique (au moins 4) et, a fortiori, dans la série servant de témoin (migration sans antigène).

La coloration du milieu 199 enrichie à IO % de sérum de poulain après 24 heures de séjour à l'étuve à 37°C est un facteur très important à considérer. Il ne doit exister aucune différence entre la coloration initiale (vermillon pâle) et la coloration lors de la lecture. Si le milieu a viré au violet, il y a eu variation de pH (de 7,4 à 8,5) et cette variation, très souvent due à la présence d'une bulle d'air dans les chambres de culture, est à elle seule capable d'inhiber la migration de plus de 20 %. La chambre de culture doit rester parfaitement étanche ; les milieux doivent être préparés extemporanément ; la chambre rapidement recouverte après introduction du milieu en prenant soin d'éliminer toute bulle d'air.

La mesure planimétrique des aires de migration doit être faite par le même opérateur.L'agrandissement doit être suffisamment important pour permettre une bonne discrimination des contours et diminuer le risque d'erreur. Dans un but de standardisation et malgré les constatations de certains auteurs (80), il a semblé préférable de mesurer l'ensemble de l'aire de migration sans discrimination d'un halo périphérique et d'un halo inclus.

Seule l'observation de ces impératifs permet d'obtenir des résultats reproductibles.

II - Système antigénique.

Des corps bactériens tués par la chaleur ont été choisis dans la mesure où, del'avis de certains auteurs (54), la technique est plus reproductible avec des antigènes particulaires.

Dans le système antigénique utilisé, il est apparu que la gamme des concentrations devait être relativement étendue (40 000 à 40 000 000).

.../...

La figure 8 illustre la variation, chez un même sujet, des pourcentages d'inhibition obtenus avec différentes concentrations antigéniques. Cette variation ne dépend pas de la concentration antigénique elle-même, puisque les valeurs obtenues dans chaque concentration sont très étalées (figure 7) et qu'il n'existe pas de différence significative entre les résultats pour chacune des doses (p supérieur à 0.10). Il s'agit donc d'une variation dans le comportement des cellules des malades lors du test.

Si on compare les résultats de T.M.L., c'est à dire le pourcentage d'inhibition maximale dans la gamme antigènique utilisée, pratiqués aux doses de 40.000 à 40.000.000 de germes par ml, aux résultats obtenus chez les mêmes sujets testés il est vrai, quelques semaines auparavant, aux doses de 10.000 et 20.000 germes / ml, on constate de grandes variations chez 6 sujets sur 16 (figure 10).

Il n'a pas été possible de déterminer une concentration antigénique optimale dans ce système. L'extension de cette gamme introduirait un facteur de sécurité supplémentaire. Elle se heurte à des obstacles peu compatibles avec la justification du test, c'est à dire son application facile en clinique humaine (nécessité d'une grande quantité de sang, réalisation et lecture plus longue).

D'autre part, il n'a pas été trouvé, dans les limites de cette gamme antigénique, et pour le streptocoque A, d'effet aussi strictement dépendant de la dose que l'avaient décrit SOBORG et BENDIXEN (84) lors de leurs travaux sur les brucelles.

III - <u>Sélection des malades</u>.

Tous les T.M.L. ont été réalisés après les

tests cutanés (datant au moins de 4 semaines). Les critères de ségrégation des malades reposent donc sur des données obtenues antérieurement à la pratique du test in vitro. L'état immunitaire des sujets aurait pu subir, entre les tests cutanés et le T.M.L., des modifications importantes. Il n'a pas été possible pour des raisons pratiques, d'éliminer ce risque d'erreur qui, en tout état de cause, semble le même dans chacun des groupes de malades.

IV - Interprétation des résultats.

A) Comparaison avec les tests cutanés.

Les pourcentages d'inhibition obtenus chez les sujets dont les tests cutanés sont positifs (groupe 2) sont significativement plus hauts que les pourcentages des sujets dont les tests cutanés sont négatifs (groupe 1). L'analyse de chacun de ces deux groupes appelle un certain nombre de remarques :

- Groupe 1 à tests cutanés négatifs : dans ce groupe, toutes les valeurs sauf une (40 %) sont inférieure à 20 %, chiffre qui peut être considéré comme le seuil de positivité. Le nombre relativement réduit de malades à tests cutanés négatifs (14 cas) s'explique par le fait que, dans une population urbaine normale, la plupart des sujets ont subi des infections streptococciques répétées (70) et ont développé une hypersensibilité retardée à l'égard du germe. Lorsque le test intra-dermique est négatif à la dose choisie (20 millions de germes), trois explications sont possibles :

- dose antigénique insuffisante : le test est alors positif à une dose supérieure
- absence d'hypersensibilité retardée vis-à-vis du streptocoque A
- état anergique transitoire.

Le groupe 1 n'est donc pas totalement homogène puisque sélectionné à partir de résultats de tests cutanés pratiqués à une dose qui, en général, est suffisante mais qui ne l'est pas forcément pour un sujet pris isolément. Ainsi le malade dont le T.M.L. était positif à 40 % avait un test intra-dermique négatif à 20 millions de germes / ml. Ce patient a été retesté avec 200 millions de germes et le test fut alors positif.

Ces réserves étant faites quant à l'homogénéité de cegroupe, les résultats obtenus avec le T.M.L. sont, sauf dans un cas, concordants avec ceux des tests cutanés puisque 11 sujets sur I2 ont un T.M.L. négatif.

- Groupe 2 à tests cutanés positifs : sur 32 valeurs, 12 sont inférieures à 20 %. Le T.M.L. est donc 12 fois négatif alors que le test cutané est positif à 20 millions de germes. Ce nombre important de " faux négatifs " semble imputable à l'emploi d'une concentration antigénique inadéquate pour ces malades. Il en résulte que seuls les résultats positifs méritent d'être pris en considération (notre analyse statistique tient compte, néanmoins de tous les résultats).

D'autre part, la corrélation entre l'intensité de la réponse cutanée à 20 millions de streptocoques et l'importance de l'inhibition obtenue in vitro n'est pas satisfaisante (figure 6), même en ne considérant que les résultats positifs, c'est-à-dire en éliminant les faux négatifs ". Ainsi un T.M.L. à 30 % correspond aussi bien à une réponse cutanée modérée qu'à une intra-dermo réaction phlycténulaire.

Quoiqu'il en soit, le T.M.L. a permis de distinguer in vitro, deux groupes de sujets dont la réactivité cutanée vis-à-vis d'une dose identique de streptocoque A était différente.

... / ...

FIGURE 9

Comparaison entre les pourcentages d'inhibition maximum obtenus dans la gamme antigénique chez les malades du groupe 3 ✱ (réaction syndromique au streptocoque) et certains malades du groupe 2 ● ayant fait une réaction syndromique à un autre antigène (soit à candida albicans, soit au staphylocoque).

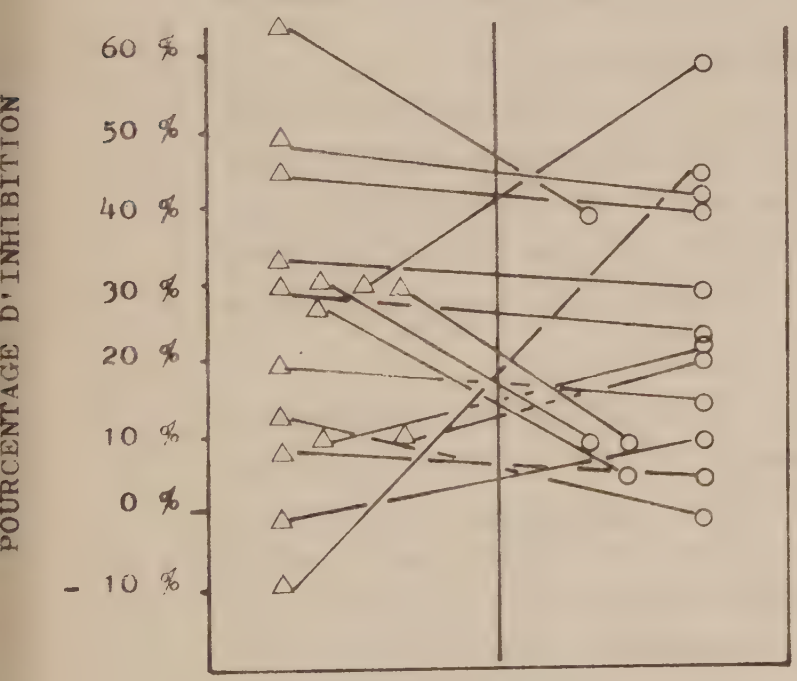

FIGURE 10

Comparaison des résultats de 2 T.M.L. pratiqués chez le même malade à plusieurs semaines d'intervalle avec des gammes antigéniques différentes (16 cas)

△ → 10.000 / 20.000 germes

○ → 40.000 / 40.000 000 "

B) Problème de la réaction syndromique (comparaison de sujets des groupes 2 et 3).

Les pourcentages d'inhibition obtenus dans le groupe 3 sont significativement plus élevés que ceux du groupe 2.

Si, compte tenu des remarques formulées plus haut, pour les faux résultats négatifs, on ne considère que les valeurs au-dessus de 20 % dans les deux groupes, la différence est encore plus significative (p = 0,00I). Ceci confirme un travail préliminaire (51).

Mais les résultats obtenus appellent encore quelques remarques.

1) Ils ne peuvent pas s'expliquer par un recrutement différent des malades puisque, les sujets du groupe 2, explorés dans le même Service hospitalier, étaient atteints de maladies du même type que ceux du groupe 3.

2) Le type de maladie n'influence pas les résultats. En effet, il n'existe pas de différence significative entre l'ensemble des pourcentages d'inhibition obtenus pour une maladie, et l'ensemble des pourcentages obtenus pour une autre maladie (U de Mann et WITHNEY : p supérieur à 0,5) au sein du groupe étudié.

3) Le fait que le T.M.L. ait permis cette discrimination alors qu'il n'existait pas de corrélation entre l'intensité de la réponse cutanée et l'importance de l'inhibition in vitro, concorde avec les constatations cliniques. En effet, les sujets présentant des réactions syndromiques n'ont pas nécessairement des tests intra-dermiques très positifs et inversement un test intra-dermique phlycténulaire ne peut, en aucune façon, avoir la valeur d'une réaction syndromique (9 - IO - 90). Il s'agit de deux phénomènes parallèles mais sans doute distincts et l'on peut penser, sans l'affirmer, que le T.M.L. est plus apte à

extérioriser l'un des deux.

4) Enfin, ces résultats pourraient être l'expression d'un phénomène de nature non spécifique. Le T.M.L. en présence de streptocoque pourrait objectiver in vitro la réactivité particulière de malades atteints de manifestations d'hypersensibilité, sans que la responsabilité du streptocoque puisse être incriminée spécifiquement. Cette hypothèse ne peut être totalement écartée.

Il existe cependant, au moins deux arguments à opposer à cette critique:

a) Le groupe 2 comporte 6 sujets présentant une sensibilisation à un autre allergène que le streptocoque. Cette sensibilisation a été mise en évidence par la survenue d'une réaction syndromique déclenchée uniquement par cet autre allergène (candida albicans, staphylococque). La figure 9 montre que les pourcentages d'inhibition de ces 6 sujets ne figurent pas tous parmi les plus importants du groupe 2 puisqu'ils sont étagés de - IO % à + 40 %.

b) Certains sujets du groupe 3 ont été testés in vitro avec d'autres antigènes que le streptocoque : candida albicans, staphylocoque. Les pourcentages d'inhibition obtenus étaient le plus souvent inférieurs à ceux des migrations en présence de streptocoque. Néanmoins, cet argument ne peut être retenu à l'heure actuelle dans la mesure où notre expérience de ces deux autres systèmes antigéniques est encore trop limitée.

C) Nécessité de la définition d'un seuil.

* Ce travail n'a permis de distinguer in vitro que des groupes d'individus dont la ségrégation avait préalablement été établie sur les résultats de l'enquête allergologique. Le test in vitro objective ainsi une tendance générale, étaye un mécanisme postulé. En raison du chevau-

chement des valeurs, à un certain niveau et d'un groupe à l'autre, il n'est pas possible, dans certains cas, de conclure pour un malade donné. Il s'agit là, pourtant, d'un problème essentiel si l'on désire disposer d'un critère biologique utilisable. Ceci introduit la notion de seuil.

Seuil de positivité (correspondant à un test intra dermique positif), seuil " d'hypersensibilité " (correspondant à une réaction syndromique).

De tels seuils sont-ils susceptibles d'être précisés ?

Certains auteurs (REVILLARD J.P. 59) pensent que, compte tenu des difficultés techniques, ce test ne pourra jamais, chez l'homme du moins, devenir réellement quantitatif.

Etant donnée la reproductibilité excellente, chez un même malade, obtenue lors de ce travail, il semble que cette opinion mérite d'être discutée. Le problème primordial est en fait celui des témoins. Il convient, en effet, pour déterminer un seuil, de pratiquer avec le même antigène, un grand nombre de tests, sur une population importante soigneusement sélectionnée. La même épreuve doit être réalisée pour chaque antigène. Ceci implique un travail très long, compte tenu de la multiplicité des antigènes streptococciques et de la difficulté de sélection d'une population humaine dans le cas particulier de l'immunité streptococcique. Il est permis de penser, à partir des

résultats rapportés ici, que ce travail ne serait peut-être pas vain.

V) Implications pathogéniques.

La stricte corrélation du T.M.L. avec l'hypersensibilité retardée a été établie par SOBORG lors de ses travaux sur les Brucelles (83). Les réserves et les critiques formulées par certains auteurs,(54-66) ont été discutées plus haut.

Le rôle de l'immunité à médiation cellulaire dans les manifestations cliniques des " allergies streptococciques " est depuis longtemps postulé essentiellement sur l'aspect des réponses aux tests dermiques. Il est néanmoins peu probable, même compte tenu des découvertes récentes concernant les " lymphokines ", que l'hypersensibilité à médiation cellulaire soit le seul mécanisme pathogénique impliqué à l'exclusion de tout anticorps circulant.

Les résultats de ce travail permettent simplement de penser que l'hypersensibilité à médiation cellulaire semble constituer un élément pathogénique important dans le déterminisme des allergies streptococciques.

CONCLUSION

* Souvent invoquée, rarement prouvée sur des éléments indiscutables, l'allergie streptococcique manque de critères étiologiques précis. Ceci tient, d'une part, à la complexité antigénique du germe et des réponses immunitaires qu'il engendre, d'autre part, aux possibilités limitées d'exploration. Cette exploration se résume en effet, à la pratique de tests intra dermiques et surtout à la recherche d'une réaction syndromique, seul critère valable. L'enquête allergologique ainsi conçue, permet parfois de poser l'indication d'une " désensibilisation spécifique " dont les résultats, quoique longs à obtenir et difficiles à maintenir, sont souvent incontestablement bénéfiques. Pourtant, l'enquête allergologique en matière d'allergie microbienne est de réalisation et d'interprétation délicate. On conçoit ainsi la nécessité d'une donnée biologique fournie par un test in vitro.
Le but de ce travail était d'aborder ce problème, grâce au test d'inhibition de la migration des leucocytes in vitro (T.M.L.).

* Le T.M.L. a été choisi en raison :

- De sa corrélation avec l'hypersensibilité retardée, permettant ainsi d'explorer uniquement le phénomène à médiation cellulaire et de préciser éventuellement son rôle dans les manifestations observées.

- De la relative facilité de réalisation technique du test autorisant son utilisation éventuelle en dehors d'un laboratoire de recherche.

* Les résultats obtenus amènent aux constatations suivantes :

- le test est reproductible
- sa réalisation technique, dans le cas particulier des antigènes streptococciques choisis (corps

bactériens) se heurte à un certain nombre d'écueils tenant essentiellement aux concentrations antigèniques dont la gamme doit être étendue sous peine de nombreux résultats faussement négatifs.

- la technique a permis, dans un ensemble de 68 malades de distinguer trois groupes de sujets dont la réactivité vis-à-vis de l'injection intra dermique de streptocoque A était différente. D'une part le pourcentage d'inhibition obtenu in vitro est significativement plus élevé chez les sujets à tests cutanés positifs que chez les sujets à tests cutanés négatifs. D'autre part, il est significativement plus élevé chez les sujets ayant extériorisé une réaction syndromique au décours du test cutané que chez les sujets à tests cutanés positifs sans réaction syndromique. La définition d'un seuil de positivité et surtout un seuil " d'hypersensibilité " est néanmoins indispensable avant l'exploitation clinique de ces notions.

* Il serait prématuré, à partir de ces résultats, de tirer des conclusions pathogéniques.
Notre but était de tenter de fournir aux données cliniques toujours difficiles à interpréter dans ce domaine, un élément biologique nouveau. L'utilisation pratique de ces résultats semble très intéressante. Elle devrait permettre non seulement d'ajouter un argument aux données de l'enquête allergologique, d'éviter l'agression potentielle de cette enquête chez les sujets fragiles, mais aussi d'aborder sous un jour nouveau, les conséquences générales de l'hypersensibilité streptococcique.

BIBLIOGRAPHIE

1- AL-ASKARI (S), DAVID (J), LAWRENCE (HS) and THOMAS (L).
In " vitro " studies on homograft sensitivity.
Nature 1965, 205, 916-917.

2- AMOS (HE) and LACHMANN (PJ).
The immunological specificity of macrophage inhibition factor.
Immunology, LOND. 1970, 18, 269-278.

3- BARTFELD (H) and KELLY (R).
Mediation of delayed hypersensitivity by peripheral blood lymphocytes " in vitro " and theirsproducts " in vitro " and " in vivo ". Morphology of in vitro lymphocyte macrophage interaction.
J. Immunol. 1968, 100, 1000-1005.

4- BARTFELD (H) and ATOYNATAN (T).
Cellular immunity.
Activity and properties of human migration inhibitory factor.
Int. Arch. Allergy, 1970, 38, 549-553.

5- BENNETT (B) and BLOOM (BR).
Studies on the migration inhibitory factor associated with delayed hypersensitivity;cytodynamics and specificity.
Transplantation. 1967, 5, 996-1000.

6- BENNETT (B) and BLOOM (BR).
Reactions " in vivo " and " in vitro " produced by a soluble substance associated with delayed type hypersensitivity.
Proc. Nat. Acad. Sci. (U.S.) 1968, 59, 756-762.

... / ...

7- BENDIXEN (G) and SOBORG (M).
A leucocyte migration technique for in vitro detection of cellular (delayed type) hypersensitivity in man.
Danish Medical Bull. I969, I6, 1-6.

8- BENDIXEN (G) and SOBORG (M).
Comments on the leucocytes migration technique as an in vitro method for demonstrating cellular hypersensitivity in man.
J. of Immunol, I970, I04, I55I-I552.

9- BERNARD (JG) et VACHERON (A).
L'allergie au streptocoque en clinique.
Le Concours Médical, I966, 88, 793-800.

10- BERNARD (JG).
Allergie infectieuse.
In : P. Vallery Radot, R. Wolfromm, J. Charpin, BN. Halpern :
Maladies allergiques.
Coll. Med. Chir. à révision annuelle Flammarion, p 718-750.

11- BLAMOUTIER (P).
La maladie de Quincke.
1 Vol. Paris, I96I, Exp. Scientif. Franç. Edit.

12- BLAMOUTIER (J) GUIBERT (L) et LAROCHE (CL).
Oedème de Quincke et allergie microbienne.
Presse Médicale I960, 15, 579-582.

13- BLAMOUTIER (J) DENIMAL (C) GOULETQUER (J) KOLLITSCH (M) et MOT (JC).
Etude statistique de l'allergie bactérienne et de ses critères étiologiques.
Gazette Medicale de France, I967, 12, 5841-5856.

14- BLOCH-MICHEL (E), FAURE (JP) et CAMPINCHI (R).
Physiologie de l'uvéite. Les applications cliniques.
Rev. Franç. Allergol. I97I, 11, I03-II5.

... / ...

15- BLOOM (BR) and BENNETT (B).
Mechanism of a reaction " in vitro " associated with delayed type hypersensitivity.
Science I966, 153, 80-82.

16- BLOOM (BR) and BENNETT (B).
Migration inhibitory factor associated with delayed type hypersensitivity.
FED. Proc. I968, 27, 13-15.

17- BLOOM (BR) and BENNETT (B).
Relation of the migration inhibitory factor (M.I.F.) to delayed-type hypersensitivity reactions.
Ann. N.Y. Acad, Sci. I970, 1969, 258-265.

18- BLOOM (BR) and JIMENEZ (L).
Migration inhibitory factor and the cellular basis of delayed-type hypersensitivity reactions.
Amer. J. of Path, I970, 60, 453-464.

19- BOREL (Y) and DAVID (JR).
In vitro studies of the suppression of delayed hypersensitivity by the induction of partial tolerance.
J. Exp. Med. I970, 131, 603-6I0.

20- BOUSQUET (M).
Diagnostic et traitement de l'allergie microbienne.
Thèse Med. Paris. I962.

21- BROSTOFF (J), ROITT (IM).
Cell mediated (delayed) hypersensitivity in patients with summer hay fever.
Lancet I969, ii 1269-1272.

22- CAYEUX (P).
Données récentes sur les infections à streptocoques.
Presse Médicale I966, 74, 2679-2682.

... / ...

23- CAMPINCHI (R), ROUSSELIE (F), BERNARD (J) et KASTLER (M).
Allergie microbienne dans le syndrome de Behcet.
Bull. Soc. Ophtalmol. Fr. I968, 48, 33-37.

24- COSTE (E) BONTOUX (D) SABETA (L).
Documents sur les rhumatismes allergiques. Rôle du streptocoque A.
Rev. Rhumat. I969, 36, 441-452.

25- COSTE (F).
Allergie et polyarthrite rhumatoïde.
Rev. Rhumat. I969, 36, 478-480.

26- DAVID (JR), AL-ASKARI (S), LAWRENCE (HS) and THOMAS (L).
Delayed hypersensitivity " in vitro ".
The specificity of inhibition of cell migration by antigens.
J. of Immunol. I964, 93, 264-273

27- DAVID (JR), LAWRENCE (H) and THOMAS (L).
Delayed hypersensitivity in vitro.
The effect of sensitive cells on normal cells in presence of antigen.
J. of Immunol. I964, 93, 274-278.

28- DAVID (JR), LAWRENCE (HS) and THOMAS (L).
Delayed hypersensitivity in vitro.
The specificity of hapten protein conjugate in the inhibition of cell migration.
J. Immunol I964, 93, 279-282.

29- DAVID (JR), LAWRENCE (HS) and THOMAS (L).
The in vitro desensitization of sensitive cells by trypsin.
J. Exp. Med. I964, 120, II89-1200.

... / ...

30-DAVID (JR) and SCHLOSSMAN (SF).
Immunochemical studies on the specificity of cellular hypersensitivity.
The in vitro inhibition of peritoneal exudate cell migration by chemically definied antigens.
J. Exp. Med. 1968, 128, 1451-1459.

31- DAVID (JR)
Delayed hypersensitivity in vitro. Its mediation by cell free substances formed by lymphoïd cells antigen interaction.
Proc. Nat. Acad. Sci. Wash. 1966, 56, 72-77.

32- DAVIS (BD) DULBECCO (R) EISEN (HN), GINSBERG (HS) and WOOD (WB).
Streptococci in"Micobiology," p 702-724.
1 Vol. 1967, NY, HOEBER EDIT.

33- DEGOS (R).
Dermatologie.
2 Vol Coll, Medico. Chir. à révision annuelle. Flammarion.

34- DEKARIS (D), FAUVE (RM), ALOUF (JE) et RAYNAUD (M).
L'hypersensibilité retardée streptococcique expérimentale chez le cobaye.
Ann. Inst. Past. 1969, 116, 602-611.

35- DRACH (G) et WAHL (R).
Recherches immunologiques sur les antigènes protéïques basiques de streptococcus pyogènes (groupe A) II Relation entre la réactivité cutanée et les anticorps circulants.
Ann. Inst. Past. 1966, 110, 403-421.

36- DUPERRAT (B), MONTFORT (J).
Les allergies vasculaires hypodermiques.
Ann. Derm. et Syph. 1958, 85, 385-411.

37- DUPERRAT (B).
Précis de dermatologie.
1 Vol Masson Edit. Paris 1959.

... / ...

38- DUVAL (J) et GAUDIN (H).
Le streptocoque A. Caractères bactériologiques.
Gaz. Med. Franç. I967, 12, 5741-5754.

39- EISEN (AM).
The role of infection in allergic disease.
Ped. Clin. N Amer. I969, I6, 63-83.

40- FERRARESI (R), DEDRICK (C), RAFFEL (S) and GOIHMANYAKR (M).
Studies of the macrophage inhibition test.
J. of Immunol. I969, 102, 852-858.

41- FOX (EN).
Antigenicity of the M protein of group A hemolytic streptococi.
J. Immunol. I964, 93, 826-837.

42- FOX (EN, WITTNER (MK) and DORFMAN (A).
Antigenicity of the M proteins of group A hemolytic streptococci. III Antibody reponses and cutaneous hypersensitivity in humans.
J. Exp. Med. I966, 124, II35-II5I.

43- GEORGE (M) and VAUGHAN (JH).
In " vitro " cell migration as a model for delayed hypersensitivity.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. I962, 111, 514-521.

44- GOLDSTEIN (I), REBEYROTTE (P), PARLEBAS (J), HALPERN(BN).
Isolation from heart valves of glycopeptides wich share immunological properties with streptococcus haemolyticus group A polysaccharides.
Nature I968, 219, 866-868.

45- GRISCELLI (C).
Aspect immunologique de l'infection streptococcique.
Immex. I970, 1, 65-72.

... / ...

46- HALPERN (BN) KY (NT), AMACHE (N) et HALPERN (G).
Le test de transformation lymphoblastique et ses applications cliniques.
Med. Int. 1969, 4, 151-161.

47- HAVLICEK (J), ALOUF (JE), et RAYNAUD (M).
Heterogénéïté antigénique de la protéine M de streptococcus pyogènes Type 24.
Ann. Inst. Past. 1969, II7, 745-755.

48- HENOCQ (E), ALOUF (J) et RAYNAUD (M).
Réactions cutanées chez l'homme aux antigènes streptococciques.
Rev. Franç. All. 1969, 9, 169-170.

49- HEWITT (J) et SCLAFER (J).
Allergies cutanées d'origine humorale ou interne.
in : Maladies allergiques E.M.C. à révision annuelle
1 Vol. Paris. E.M. Flammarion, p 496-534.

50- HIGGINS (R).
Obscure streptococcal syndromes.
Proc. Roy. Soc. Med. 1970, 63, 409-412.

51- HUSSON (J.M.), SAURAT (JH) et PAUPE (J).
Le test d'inhibition de la migration des leucocytes et ses applications en allergologie.
Cours de perfectionnement d'immunologie clinique.
Hopital Rothschild Paris, 12.3.1971. A paraitre.

52- ISENBERG (HD).
Some aspects of basic microbiology of streptococcal disease.
New York State J. Arch. 1968, 68, 1370-1380.

53- JIMENEZ-DIAZ (C) et ARJONA (E).
Role de l'infection dans la genèse des maladies allergiques
Acta. Allergol. 1953, Suppl. III. 105-142.

... / ...

54- KALTREIDER (HB), SOGHOR (D), TAYLOR (JB) DECKER (JL).
Capillary tube migration for detection of human delayed hypersensitivity. Difficulties encountred with " buffy coat " cells and tuberculin antigen.
J. Immunol. I969, I03, I79-I84.

55- KAPLAN (MH) and SVEC (KH).
Immunologic relation of streptococcal and tissue antigen. III Presence in human sera of streptococcal antibody cross reactive with heart tissue. Association with streptococcal infection rhumatic fever and glomerulo-nephritis.
J. Exp. Med. I964, 119, 651-666.

56- KY (NT) LAROCHE (CL), OFFRET (G), CAMPINCHI (R). et KASTLER (M).
Allergie microbienne en ophtalmologie.
(D'après 65 observations).
Rev. Franç. All. I96I I, 257-258.

57- KY (NT), HALPERN (BN), LAGRUE (G) et LANGLOIS (C).
La transformation lymphoblastique in vitro des lymphocytes sa sanguins appliquée à l'étude de l'allergie microbienne.
La Presse Médicale I966, 74, III9-II22.

58- KY (NT), HAZARD (J) et LAROCHE (CL).
Allergies vasculaires cutanées d'origine streptococcique.
Presse Médicale I968, 76, 247-250.

59- LAMELIN (JP).
Inhibition of macrophage migration.
In : Cel-Mediated Immunity. in vitro correlates p. 75-I02.
1 Vol. Karger Basel I97I.

60- LANCEFIELD (RC) and PERLMAN (GE).
Preparation and properties of the type specific M antigen isolated from a group A type 1 hemolytic streptococcus.
J. Exp. Med. I952. 96, 7I-82.

... / ...

61- LANCEFIELD (RC).
Cellular constituents of group A streptococci concerned in antigenicyty and virulence.
In : Streptococcal infection p 3
Columbia University Press NY 1954.

62- LAWRENCE (HS).
Transfert of skin reactivity to streptococcal products ; in " streptococcal infection ".
Columbia University Press. New York 1954. 144-156.

63- LAWRENCE (HS).
The transfert in human of delayed skin sensitivity to streptococcal M substance and to tuberculin with disrupted leucocytes.
J. Clin. Invest. 1955, 34, 219-230.

64- LAWRENCE (HS) and VALENTINE (FT).
Transfer factor and other mediators of cellular immunity.
Amer. J. Pathol. 1970, 60, 437-450.

65- LIPSMEYER (EA) and KANTOR (FS).
Delayed hypersensitivity. III Effect of pré exposure to antigen upon macrophage migration.
J. Immunol. 1969. 102, 1074-1078.

66- LOCKSHIN (MD).
Failure to demonstrate leucocyte migration inhibition in human tuberculin hypersensitivity.
Proc. Soc. Exp. Biol. N.Y. 1969, 132, 928-930.

67- MICHEAL (JG) and MASSELL (BF).
Dynamics in developpement of experimental streptococcal immunity in mice.
J. Bacteriol. 1968. 96, N° 1, 131 - 138.

... / ...

68- MOORKERJEE (B), ACKMAN (CFD) and DOSSETOR (JB).
Delayed hypersensitivity in vitro using human peripheral leucocytes.
Transplantation I969, 8, 745-748.

69- MOULIAS (R), GOUST (SM) et Coll.
Le test de migration des leucocytes du sang périphérique (T.M.L.). Un nouveau test d'hypersensibilité retardée " in vitro " chez l'homme.
II. Utilisation dans les affections auto-immunes humaines.
Presse Médicale I970. 78, 2315-2318.

70- MOZZICONACCI (P). GERBEAUX (CL) et CARAVANO (R).
Infections streptococciques et porteurs sains.
Semaine des Hopitaux. Annales de Pédiatrie. I96I, 37, 417-423

71- MULLER-BERAR (CN) et MOULIAS (R).
Le test de migration des leucocytes du sang périphérique (T.M.L.).
Un nouveau test d'hypersensibilité retardée in vitro chez l'homme.
Presse Médicale I970, 78, 77-79.

72- NORLING (G).
Cutaneous allergy and vascular reactions in experimental streptococcal infections.
Acta Rhum. Scand. I962, 8, 141-160.

73- PACMAN (LM) and FOX (EN).
Cellular and antibody reactions to streptococcal M protein type 1-3-6-12.
J. Immunol. I970. 105, 898-907.

74- PERLES (L) et VALLERY RADOT (CL).
A propos de l'allergie microbienne en Rhumatologie.
Revue du Rhumatisme I968, 33, 90-97.

... / ...

75- PERLES (L) et VALLERY RADOT (CL).
Comment reconnaitre et traiter les polyarthrites subaigues ou chroniques par allergie microbienne.
Revue du Rhumatisme. I969, 36, 469-476.

76- RECORDIER (AM), BESSON (J), AQUAVIVA (P), ROUX (H) et EISENGER (J).
Rhumatisme inflammatoire et tests d'allergie cutanée.
Revue du Rhumatisme I969, 36, 453-461.

77- REMOLD (HG) and DAVID (JR).
Cellular hypersensitivity : characterisation of migration inhibitory factor (M.I.F.) by enzymatic treatment.
Fed. Proc. I970, 29, 339.

78- RICH (AR) and LEWIS (MR).
The nature of allergy in tuberculosis as revealed by tissue culture studies.
Bul. Johns Hopk Hosp. I932, 50, II5-I28.

79- ROCKLIN (RE), MEYERS (O), and DAVID (J.R.).
An " in vitro " assay for cellular hypersensitivity in man.
J. Immunol. I970. I04, 95-I02.

80- ROSENBERG (SA) and DAVID (JR).
Inhibition of leucocyte migration : an evaluation of this in vitro assay of delayed hypersensitivity in man to a soluble antigen.
J. Immunol. I970, I05, I447-I452.

8I- SALVIN (SB) and NISHIO (J).
In vitro cell reaction in delayed hypersensitivity.
J. Immunol. I969, I03, I38-141.

82- SAURAT (JH), CARTRON (Mme J), HERMAN (D) WOLFROMM (R).
Utilisation du test de transformation lymphoblastique en pratique allergologique. Travail établi sur I57 observations.
Rev. Franç. All. (à paraitre).

... / ...

83- SOBORG (M) and BENDIXEN (G).
Human lymphocyte migration as a parameter of hypersensitivity.
Acta Med. Scand. I967. I8I, 247-256.

84- SOBORG (M).
In vitro detection of cellular hypersensitivity in man. Specific migration inhibition of white blood cells from brucella positive persons.
Acta Med. Scand. I967, I82, I67-I74.

85- SOBORG (M).
In vitro migration of peripheral human leucocytes in cellular hypersensitivity.
Acta Med. Scand. I968. I84, I35-I39.

86- SOBORG M.
Interaction of human peripheral lymphocytes and granulocytes in the migration inhibition reaction.
Acta. Med. Scand. I969, I85, 221-226.

87- THOR (DE) and DRAY (S).
A correlate of human delayed hypersensitivity; specific inhibition of capillary tube migration of sensitized human lymph node cells by tuberculin and histoplasmin.
J. Immunol. I968. IOI, 51-61.

88- THOR (D) and DRAY (S).
The cell migration inhibition correlate of delayed hypersensitivity.
J. of Immunol. I968, IOI, 469-480.

89- THOR (DE), JUREZIZ (RE) VEACH (SR) MILLER (E) and DRAY (S).
Cell migration inhibition factor released by antigen from human peripheral lymphocytes.
Nature I968, 219, 755-757.

... / ...

90- WOLFROMM (R) , KY (NT), et KAUFMAN (E).
Le rôle des facteurs microbiens en tant qu'allergènes.
Rev. Franç. All. I96I. I, 257-

9I- ZABRISKIE (JB), FREMER (EM).
An immunological relationship between the group A streptococcus and mammalian muscle.
J. Exp. Med, I966, 124, 661-678.

92- ZABRISKIE (JB), LEWSMENIA (R), MOLLER (G), WEHLE (B) and Falk (RE).
Lymphocytic reponses to streptococcal antigens in glomerulonephritis patients.
Science I970, I68 , II05-II08.